



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**PROPAGAÇÃO RÁPIDA DE *Manihot esculenta* (Crantz), E REAÇÃO DE
ACESSOS DE MANDIOCA A *Xanthomonas axonopodis* pv.*manihotis***

Kleiton Rodrigues Aquiles

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

**Brasília – DF
MARÇO 2014**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**PROPAGAÇÃO RÁPIDA DE *Manihot esculenta* (Crantz), E REAÇÃO DE
ACESSOS DE MANDIOCA A *Xanthomonas axonopodis* pv.*manihotis***

Kleiton Rodrigues Aquiles

ORIENTADOR: Jean Kleber de Abreu Mattos
CO-ORIENTADOR: Carlos Hidemi Uesugi

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: 070/2014

BRASÍLIA/DF
MARÇO 2014

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA


PROPAGAÇÃO RÁPIDA DE *Manihot esculenta* (Crantz), E REAÇÃO DE
ACESSOS DE MANDIOCA A *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*


KLEITON RODRIGUES AQUILES

Dissertação de Mestrado submetida à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em
Agronomia na área de concentração de Produção Sustentável.

APROVADA em 24 de Março de 2014 por:


JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS, D.Sc. (Universidade de Brasília-FAV).
(ORIENTADOR) CPF: 002.288.181-68 Email: jkamattos@gmail.com


JOSÉ RICARDO PEIXOTO, D.Sc. (Universidade de Brasília-FAV).
(EXAMINADOR INTERNO) CPF: 354.356.236-34 Email: peixoto@unb.br


ÉDER MARQUES, D.Sc. CAPES
(EXAMINADOR EXTERNO) CPF: 859.732.701-49 Email: edermarques@unb.br

BRASÍLIA/DF, 24 de março de 2014.

FICHA CATALOGRÁFICA

Aquiles, Kleiton Rodrigues. PROPAGAÇÃO RÁPIDA DE *Manihot esculenta* (Crantz), E REAÇÃO DE ACESSOS DE MANDIOCA A *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. Orientação: Jean Kleber de Abreu Mattos. 2014. 87 p.
Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2014.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AQUILES, K. R. Propagação rápida de *Manihot esculenta* (Crantz), e Reação de acessos de mandioca a *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, 87 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Kleiton Rodrigues Aquiles

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: Propagação rápida de *Manihot esculenta* (Crantz), e reação de acessos de mandioca a *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*.

GRAU: MESTRE

ANO: 2014

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Kleiton Rodrigues Aquiles

Kleiton Rodrigues Aquiles

CPF: 011.345.571-24

QD 06 Lt 05 Setor Sul CEP: 72415-300 – Gama – DF

Email: kleitonaquiles1@gmail.com

*A Deus, por ter me dado força para contornar os obstáculos encontrados ao longo da
minha vida.*

*Aos meus pais José Aquiles e Maria Celeste, por terem me ensinado valores éticos e
morais para a minha formação como um cidadão do bem.*

*Aos meus avôs maternos e paternos, já falecidos, que sempre me apoiaram nos
momentos mais difíceis da minha vida.*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus por ter me dado força para superar as dificuldades encontradas durante a condução dos trabalhos.

A minha família, meus pais José Aquiles e Maria Celeste; e meu irmão Cleber, por terem me apoiado nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador e co-orientador, Dr. Jean Kleber de Abreu Mattos e Dr. Carlos Hidemi Uesugi, respectivamente, que auxiliaram diretamente em todas as etapas do nosso trabalho.

Aos pesquisadores da Embrapa Cerrados Eduardo Alano e Josefino de Freitas, pelo fornecimento dos materiais de propagação de mandioca e o auxílio na condução e elaboração do projeto.

A Zara que é uma das responsáveis pelo banco de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura pelo fornecimento do material de propagação da variedade BRS Dourada BGMC 1398.

Ao apoio técnico dos funcionários do departamento de fitopatologia, especialmente os funcionários Arenildo Soares, Arlindo, Éder e Maria.

Ao apoio dos funcionários da Estação Experimental de Biologia, especialmente os funcionários Fábio Rocha, Evandro Calixto, Aldo Mostardi, Geraldo e Francisco.

A minha amiga Daiane Nóbrega pela ajuda na instalação, condução e avaliação dos experimentos.

MUITO OBRIGADO!

Sumário

RESUMO GERAL	xi
GENERAL ABSTRACT	xiii
1 – Introdução Geral.....	1
2 –Objetivos	3
2.1 –Objetivo geral	3
2.2 – Objetivo Específico	3
3 – Revisão de Literatura	4
3.1 – A Mandioca	4
3.2 – Tipos e Usos da Mandioca.....	4
3.3 – Sistema de Propagação da Cultura	7
4 – Propagação Rápida da Mandioca	10
4.1 – Instalações necessárias	10
4.2 – Materiais necessários	11
4.3 – Procedimentos	11
5 – Bacteriose da Mandioca	14
5.1 – Sintomas.....	15
5.2 – Etiologia.....	16
5.3 – Controle	21
6 – Referências Bibliográficas	22
CAPÍTULO 1 - Adaptação do método original de propagação rápida de <i>Manihot esculenta</i> Crantz.	
RESUMO	30
ABSTRACT	31
1 – INTRODUÇÃO	32
2 – MATERIAL E MÉTODOS	38
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4 – CONCLUSÃO	47
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
6 – ANEXO.....	51
CAPÍTULO 2 - Reação de Acessos de Mandioca a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>manihotis</i>	
RESUMO	53
ABSTRACT	55
1 – INTRODUÇÃO	57
2 – MATERIAL E MÉTODOS	60
2.1 – Origem e Triagem do Material de Propagação.....	60
2.2 – Corte, Sanitização e Tratamento de Manivas-sementes	61
2.3 –Plantio.....	62
2.4 – Corte e Enraizamento dos Brotos	62
2.5 – Transplante dos Brotos Enraizados	63
2.6 –Isolamento e Recuperação de Estirpes de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>manihotis</i>	63
2.7 – Preparo da Suspensão Bacteriana	64
2.8 – Teste de Screening com Mudas Aclimatadas	64
2.9 – Avaliações	65
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
4 – CONCLUSÕES.....	81
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
6 –CONSIDERAÇÕES FINAIS	86

Índices de Figuras

Revisão de Literatura

Figura 1.....	16
Principais sintomas da bacteriose em mandioca provocado por <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>manihotis</i> . (A) Mancha foliar; (B) Goma na haste ou pus; (C) Murcha foliar; (D) Morte descendente.	
Figura 2.....	17
Colônias apigmentadas de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>manihotis</i> em meio de cultura.	
Capítulo 1-Adaptação do método original de propagação rápida de <i>Manihot esculenta</i> Crantz.	
Figura 1.....	39
Diferentes idades de estacas provenientes do terço intermediário. (A) fragmentos basais; (B) fragmentos intermediários; (C) fragmentos apicais.	
Figura 2.....	39
(A) Plantio das minimanivas de duas gemas nos vasos e (B) recipiente plástico transparente sobre os vasos.	
Figura 3.....	41
(A) Cortes dos brotos destinados para o enraizamento; (B) câmara de enraizamento; (C) brotos enraizados após 3 semanas; (D) mudas aclimatadas.	
Capítulo 2- Reação de acessos de mandioca a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>manihotis</i>	
Figura 1.....	61
Retirada de fragmentos nas ramas dos acessos de mandioca (A) e deposição desses no meio 523 conforme a numeração de cada rama (B).	
Figura 2.....	65
Inoculação das folhas (A) e das hastes (B).	
Figura 3.....	68
Mudas sem sintomas (A) e mudas com o complexo de infecção sistêmica: Recuperação parcial sem morte descendente (B), Recuperação parcial com morte descendente (C), Presença de pus, sem ou com morte descendente (D), Morte descendente com pus e recuperação parcial (E), Morte descendente com pus e sem recuperação parcial (F).	
Figura 4.....	69
Representação das variações das escalas de notas para os sintomas de mancha (MA), murcha (MU) e complexo de sintomas de natureza sistêmica (CSNS). Área máxima do triângulo retângulos formado dessa associação.	

Índices de Tabelas

Capítulo 1-Adaptação do método original de propagação rápida de *Manihot esculenta* Crantz.

Tabela 1 (ANEXO)..... 51
Resumo da análise de variância do número de brotos gerados por minimaniva obtidas a partir de minimanivas de mandioca com duas gemas do seguimento basal, intermediário e apical do terço médio da haste da variedade Americana.

Tabela 2 45
Comparação de médias do número de brotos gerados por minimaniva obtidas a partir de minimanivas de mandioca com duas gemas do seguimento basal, intermediário e apical do terço médio da haste da Variedade Americana.

Capítulo 2- Reação de acessos de mandioca a *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*

Tabela 1 66
Escala de notas atribuídas aos diferentes intervalos de aparecimento de manchas foliares inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*.

Tabela 2 67
Escala de notas atribuídas aos diferentes intervalos de aparecimento de murchas foliares inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*.

Tabela 3 67
Escala de notas atribuídas aos diferentes sintomas de natureza sistêmica inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*.

Tabela 4 69
Faixas de resistência e suscetibilidade, com base nas médias das áreas do índice de doença (ID) relacionado aos sintomas de bacteriose.

Tabela 5 70
Índice de contaminação por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em porcentagem dos genótipos avaliados.

Tabela 6 72
Classificação dos genótipos de mandioca com base no índice de doença (ID) dos sintomas individuais de mancha (MA), murcha (MU), complexo de sintomas de natureza sistêmica (CSNS) em relação ao isolado de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* UnB 1386.

Tabela 7 73
Classificação dos genótipos de mandioca com base no índice de doença (ID) dos sintomas individuais de mancha (MA), murcha (MU), complexo de sintomas de natureza sistêmica (CSNS) em relação ao isolado de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* UnB 1111.

Tabela 8 74
Classificação dos genótipos de mandioca com base no índice de doença (ID) dos sintomas individuais de mancha (MA), murcha (MU), complexo de sintomas de

natureza sistêmica (CSNS) em relação ao isolado de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* UnB 1152.

Tabela 9 77

Resumo da análise de variância e valores médios de ID para reação de 14 genótipos de mandioca após a inoculação das folhas e hastes considerando as três estirpes *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* utilizadas no estudo, a partir da média dos valores do índice de doença.

Tabela 10 79

Agressividade das estirpes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* utilizadas com base na média do índice de doença provocado.

Resumo Geral

As raízes da mandioca são componente cotidiano da refeição de milhões de pessoas no mundo em vários países, devido a grande capacidade de armazenamento de amido em suas raízes. Porém, alguns fatores são limitantes como o baixo índice de multiplicação da cultura e suscetibilidade a bacteriose *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (Xam) em condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da doença. Os objetivos deste trabalho foram testar a capacidade de produção de mudas de mandioca utilizando manivas com diferentes idades de estacas pelo método de propagação rápida e avaliar a agressividade de três isolados de Xam provenientes de três regiões geográficas distintas do Brasil em genótipos de mandioca de mesa em condições de casa de vegetação. Os experimentos foram realizados na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília em uma estufa do tipo *glasshouse*. No experimento de propagação rápida, foram escolhidas no campo plantas vigorosas e sadias da variedade Americana BGMC 1246, para a retirada de pequenos fragmentos da rama dos seguimentos basal, intermediário e apical. As ramas foram cortadas em minimanivas com aproximadamente 6 cm de comprimento com duas gemas cada uma. Três minimanivas foram plantadas em vasos plásticos de 2L, contendo uma mistura de latossolo vermelho cultivado de cerrado (LV), areia, esterco bovino curtido e vermiculita; nas seguintes proporções 2: 1: 1: 1, respectivamente. Após o plantio, sobre cada vaso foi colocado um recipiente plástico transparente, funcionando como campânula para a manutenção da alta temperatura e umidade no interior dos vasos. Durante o experimento foi avaliado o número de brotos herbáceos, porcentagem de brotação, número de brotos enraizados, porcentagem de brotos enraizados, número de mudas aclimatadas e porcentagem de mudas aclimatadas produzida por cada minimaniva de duas gemas correspondente a cada tratamento. As características que mostraram diferenças significativas entre os segmentos testados foram o número de brotos herbáceos, porcentagem de brotação, número de brotos enraizados e número de mudas aclimatadas, sendo o segmento basal o mais indicado para a produção dessas características comparada aos outros segmentos. No experimento de reação de acessos de mandioca a Xam, foram utilizados 17 acessos de mandioca, provenientes principalmente do banco de germoplasma da Embrapa Cerrados. Os materiais de propagação dos acessos passaram por um processo de triagem a fim de identificação de possíveis focos de contaminação pela bactéria Xam. Pequenos fragmentos de cada rama foram retirados e depositados em meio 523, sendo incubados com temperatura de 28 °C por 48 horas. Após esse período, foi verificado o crescimento de colônias nos fragmentos das ramas, sendo selecionado quatorze acessos que apresentaram índice de contaminação inferior a 15 %. As ramas dos acessos selecionados foram cortadas com duas gemas cada uma; sanitizadas e tratadas com hipoclorito de sódio (5%) e Agrimicina, respectivamente. Após a sanitização, três minimanivas foram plantadas em cada vaso de 2L, sendo os vasos preenchidos com a mistura de latossolo vermelho, areia, esterco bovino curtido e vermiculita autoclavados. Quando os brotos apresentaram dez centímetros de altura foram cortados com estilete desinfetado, e colocados para enraizar em água. Três a quatro semanas após o início do enraizamento, os brotos enraizados foram transplantados em sacos de mudas contendo a mesma mistura autoclavada utilizada no plantio das minimanivas, sendo colocadas em bancadas de concreto no interior da casa de vegetação. As mudas foram transplantadas novamente em vasos plásticos de 2 L de capacidade quando atingiram altura de 25 cm. As estirpes de Xam foram recuperadas

em meio 523 por 48 horas a temperatura de 28 °C em uma estufa. Logo após a recuperação, para cada estirpe foi preparada suspensão bacteriana com concentração 1×10^8 UFC.ml⁻¹ determinada no espectrofotômetro com absorbância de 0,350 e comprimento de onda 550 nm. As plantas foram inoculadas nas folhas e hastes. A inoculação das folhas foi realizada utilizando uma tesoura esterilizada, após a imersão prévia na suspensão bacteriana, sendo cortados três folíolos em folhas diferentes por planta. A inoculação da haste foi realizada utilizando palitos de madeira esterilizados, imersos na suspensão bacteriana por dez minutos, sendo introduzido um palito por planta na gema da folha mais velha. Foram atribuídas notas aos sintomas individuais de mancha, murcha e complexo de sintomas de natureza sistêmica durante o período de avaliação. A partir da associação das notas dos sintomas individuais, foi possível obter o índice de doença, que foi utilizado para diferenciar os acessos de mandioca quanto à reação à *Xam*, avaliando também a relação genótipos de mandioca x estirpes de *Xam*. Os resultados mostraram diferenças significativas entre os genótipos de mandioca e entre as estirpes de *Xam*, porém a relação genótipos de mandioca x estirpes de *Xam* não foi significativa. Considerando as três estirpes utilizadas no estudo, sete genótipos foram classificados como moderadamente resistente a partir do valor médio de índice de doença, semelhante aos genótipos BGMC 753 e BGMC 982 que são amplamente utilizados por agricultores do Distrito Federal devido à tolerância a bacteriose. A estirpe UnB 1111 foi mais agressiva que as estirpes UnB 1386 e UnB 1152 com base no valor médio do índice de doença, considerando os quatorze genótipos de mandioca utilizados no estudo.

Palavras Chaves: *Manihot esculenta*, Bacteriose, Propagação, Inóculo, Variabilidade e Resistência.

GENERAL ABSTRACT

The cassava roots are the daily meal of a hundred people all over the world in several countries, because of the great keep capacity of the starch in its roots. However, some factors are limiters as the low level of the multiplication and susceptibility of the culture to the bacteriose *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihoti* (*Xam*) in wealthy favorable conditions for the development of the disease. The objectives of this paper were to test the production capacity of cassava seedlings using manivas with different stakes ages by the fast propagation method and evaluate the aggressiveness of three isolated of *Xam* from the three distinguished geographic regions of Brazil in eatable cassava genotypes in conditions of vegetation house. The experiments were realized in the experimental biology station of the University of Brasilia in a glasshouse heater. In the fast propagation experiment were chosen, in the field, vigorous and healthy plants from the American variety BGMC 1246, for the taken of small fragments of the basal, intermediate and apical segments branches. The branches were cut in minimanivas with 6 cm in length around with two gems each one. Three minimanivas were planted in plastic vases of 2L, containing a mixture of red latosolo cultivated in the cerrado (LV), sand, cattle manure and vermiculite; in the following proportions 2: 1: 1: 1, respectively. After the plantation, over each vase was put a transparent plastic recipient, working as a bell for the manufacturing of the high temperature and moisture in the interior of the vases. During the experiment was valued the number of herbaceous shoots, born percent, number and percent of rooted shoots, number of acclimate seedlings, being the basal segment the most indicated for the production of these parameters compared to other segments. In the experiment the access reaction of cassavas to the *Xam*, were used 17 access of cassava, from, mainly, the bank of germplasm from Embrapa Cerrados. The access propagation materials went through a trial process looking for the identification of possible contamination focus by the *Xam* bacterium. Little fragments of each foliage were taken and put in middle 523, being incubated with a 28°C temperature for 48 hours. After this period, it was verified the colony growth in the foliage fragments, being selected fourteen access that showed contamination level lower than 15%. The selected access foliage were cut with two gems each one; sanitized and treated with sodium hypochlorite (5%) and agrimicina, respectively. After the sanitization, three manimanivas were planted in each vase of 2L, being the vases filled with the mixture of the red latosolo, sand, cattle manure and autoclaved vermiculite. When the seedlings showed 10cm high they were cut with a disinfected stylus and put to be rooted in the water. Three to four weeks after the beginning of the root, the rooted seedlings were transplanted in bags of seedlings containing the same autoclaved mixture used in the manivas plantation, being put in concrete banks in the house vegetation interior. The seedlings were transplanted again in plastic vases of 2L capacity when they got the 25cm high. The *Xam* strains were recovered in middle 523 for 48 hours in a 28°C temperature in a heater. Right after the recovering, for each strain was prepared a bacterial suspension with a 1×10^8 UFC. ml^{-1} concentration determined in the spectrophotometer with absorbance of 0,350 and wave length 550 nm. The plants were inoculated in the leaves and rods. The leaf inoculation was realized using a sterilized scissors, after the previous immersion in the bacterial suspension, being cut three leaflets in different leaves for plant. The rod inoculation was realized using sterilized wooden toothpicks, drowned in the bacterial suspension for ten minutes, being introduced a toothpick for plant in the older leaf gem. It was attributed grades to the stink individual symptoms, wilt and complex of systemic nature symptoms

during the evaluate period. From the grade association of the individual systems was possible to obtain the disease level, which was used to differentiate the cassava access as the *Xam* reaction, also evaluating the relation cassavas genotypes x *Xam* strains. The results showed meaningful differences among the cassava genotypes and among the *Xam* strains, however the relation cassava genotypes x *Xam* strains wasn't meaningful. Considering the three strains used in the study, seven genotypes were classified as moderately resistant from the middle value of the disease level, similar to the BGMC 753 and BGMC 982 genotypes that are plenty used by agricultures from Distrito Federal because of the bacteriose tolerance. The UnB 1111 strain was more aggressive than the UnB 1386 and UnB 1152 strains with base in the middle value of the disease level, considering the fourteen cassava genotypes used in the study.

Key words: *Manihot esculenta*, Bacteriose Propagation, Inoculum, Variability and Resistance.

1. Introdução Geral

A Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) depois das culturas do arroz e do milho é a terceira fonte calórica mais importante nos trópicos. Milhões de pessoas dependem da mandioca nos países da África, Ásia e América Latina (FAO, 2014a). A mandioca pertence à família das euforbiáceas, constituindo uma das poucas espécies do gênero *Manihot* que é utilizada na alimentação humana e animal, em razão de possuir dupla capacidade fisiológica, sintetizar amido nas folhas e armazená-lo nos tecidos de reserva (CRUZ & PELACANI, 1998).

A produção mundial de mandioca situa-se um pouco acima de 230 milhões de toneladas, constituindo uma das principais explorações agrícolas do mundo. Dentre os continentes, a África é o maior produtor mundial com 52,82%, seguido pela Ásia com 32,64%, Américas com 14,44% e Oceania com 0,09% (FAO, 2014b).

O Brasil ocupa a terceira posição na produção mundial de mandioca com produção de 23.044.557t e produtividade média de 19,14 t ha⁻¹, correspondente a 10,09 % do total. A Nigéria ocupa a primeira posição com produção de 54.000.000 t e produtividade média 9,57 t ha⁻¹, em segunda a Indonésia com 23.922.075t e produtividade média 20,22 t ha⁻¹, em quarto a Tailândia com 22.500.000t e produtividade média 18,83 t ha⁻¹ e a República Democrática do Congo com 16.000.000 t e produtividade média 12,02 t ha⁻¹ (FAO, 2014b).

Segundo dados do IBGE (2013) na distribuição da produção de mandioca entre as regiões geográficas brasileiras, destaca-se a região Norte com 31,30% da produção nacional, sendo o estado do Pará (19,70%) o maior produtor dessa região. Segunda colocada é a região Nordeste com 29,80%, destacando os estados da Bahia (10,10%) e Maranhão (7,00%). A terceira é a Região Sul com 23,20%, destacando os estados do Paraná (16,60%) e Rio Grande do Sul (5,00%). Quarta é a Região Sudeste com 10,10%, sendo o estado de São Paulo (4,80%) o maior produtor dessa região. A quinta é a região Centro Oeste 5,50%, sendo o estado do Mato Grosso do Sul (2,80%) maior produtor da região.

As variedades de mandioca de mesa também chamadas de macaxeira ou aipim são destinadas a alimentação humana (VILPOUX, 2002). Segundo Vieira *et al.* (2011)

as raízes das boas variedades de mesa devem apresentar: baixo teor de ácido cianídrico (HCN) que deve ser menor que 100 ppm em raízes frescas, cor da película da raiz marrom, sabor apreciado pelos consumidores, pequeno tempo de cozimento, poucas fibras, coloração da polpa amarela ou rosada, uniformes e com tamanho comercial e boa qualidade da massa cozida.

Segundo Conceição (1981) a mandioca é uma planta de propagação tipicamente agâmica ou assexuada, multiplicando-se por meio de fragmentos da haste ou rama, que são conhecidos popularmente por manivas-sementes. Sua multiplicação por meio de sementes botânicas atualmente está restringida às instituições que desenvolvem pesquisas de melhoramento genético.

A cultura da mandioca possui uma característica intrínseca, constituindo um obstáculo à sua propagação em larga escala, que é a sua baixa taxa de propagação. Uma planta de mandioca pode produzir de 5 a 10 manivas de 20 cm de comprimento, em um período de 12 meses, correspondendo uma taxa de multiplicação de 1:5 a 1:10 (SANTOS *et al.*, 2009).

As principais limitações no cultivo estão associadas à utilização de processos produtivos de baixa tecnologia; bacteriose doença que ocorre na região centro sul do país, Paraguai, Colômbia e outras regiões; ocorrência de pragas como mandarová, ácaros e cochonilhas; apodrecimento de raízes nas regiões quentes e úmidas (FUKUDA & OTSUBO, 2003). A bacteriose provocada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* constitui a principal doença da cultura da mandioca, em regiões onde as condições climáticas são favoráveis ao seu desenvolvimento as perdas podem ser totais. A severidade da doença é maior no período de maior crescimento das plantas, principalmente em regiões com média de precipitação anual maior que 1200 mm e alta taxa com variação de temperatura entre o dia e a noite (maior que 10 °C) durante cinco dias (ANJOS *et al.*, 2011).

Há uma grande variação nos sintomas apresentados com a utilização de diferentes variedades de mandioca, como também há variações de agressividade entre os isolados da bactéria na América do Sul e África (RESTREBO *et al.*, 2000; TAKATSU *et al.*, 1978; WYDRA *et al.*, 2004). A principal forma de disseminação do patógeno entre e dentro regiões, é através de material de propagação contaminado (MASSOLA & BEDENDO, 2005).

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Testar o método de propagação rápida de mandioca, proposto por pesquisadores da área. Avaliar a reação de genótipos de mandioca de mesa a *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, em condições de casa de vegetação.

2.2. Objetivos Específicos

Avaliar a capacidade de produção de mudas de mandioca, a partir de ramas com diferentes idades de estacas do segmento intermediário, propondo uma adaptação com a utilização de miniestufas individualizadas e recipientes alternativos.

Determinar a reação dos genótipos de mandioca para os três isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em condições de casa de vegetação.

Avaliar a interação genótipos de mandioca x estirpes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em condições de casa de vegetação.

Determinar a diferença de agressividade dos três isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* provenientes das regiões Norte, Centro Oeste e Sul; utilizando 14 genótipos de mandioca.

3. Revisão de Literatura

3.1. A Mandioca

A mandioca é originária do continente americano, mais provavelmente da região central do Brasil, acredita-se que a espécie já era cultivada pelas tribos indígenas locais por ocasião da descoberta do país. Os colonizadores foram responsáveis por sua disseminação em quase todo continente americano e os portugueses pela sua difusão nos demais, principalmente na África e na Ásia (FUKUDA & OTUSUBO, 2003).

As principais razões para sua difusão se devem à sua capacidade de adaptação a distintas condições de clima e solo, à facilidade de cultivo, ao elevado rendimento de raízes e as variadas formas de utilização. A cultura é caracterizada como rústica e possui elevada capacidade de regeneração, sendo cultivada em todas as regiões tropicais, entre as latitudes de 30°N e 30°S, situando-se em várias delas como principal planta de subsistência e de exploração econômica (CONCEIÇÃO, 1981).

3.2. Tipos e Usos da Mandioca

Cultivada em todo território nacional a mandioca pode ser utilizada sob as mais diferentes formas. Sua utilização depende da região de cultivo, em geral a planta é utilizada integralmente tanto na alimentação humana como animal, sob a forma de amido, farinha, raspa, cozida ou frita. Para cada forma de utilização as variedades devem apresentar algumas características específicas (MATTOS & GOMES, 2000).

As cultivares de mandioca são classificadas em ‘mansas’ e ‘bravas’ conforme a capacidade de armazenamento de glicosídeos cianogênicos nos tecidos das raízes. Os acessos de mandioca que possuem mais que 100 ppm de ácido cianídrico nas raízes frescas são classificadas como ‘bravas’, por serem tóxicas para o consumo humano quando consumidas *in natura* e são destinadas a indústria principalmente de farinha e fécula. Para que as variedades bravas possam ser consumidas é necessário seu processamento, objetivando eliminar o excesso de HCN. Os acessos que possuem menos de 100 ppm de HCN nas raízes frescas são classificadas como mandioca ‘mansa’ ou de mesa, podem ser consumidas *in natura* ou processadas (BOLHUIS, 1954; VIEIRA *et al.*, 2011; FIALHO *et al.*, 2002).

As mandiocas mansas ou de mesa podem se destinar tanto ao consumo *in natura* (cozidos ou fritos) quanto à indústria (VIEIRA *et al.*, 2011). As variedades de mandioca de mesa mais indicadas para o Distrito Federal devem apresentar as seguintes características de raízes: coloração de polpa amarela, creme ou rosada, elevada produtividade de raízes, baixo teor de HCN nas raízes, cor da película das raízes marrom, pedúnculo curto nas raízes, raízes lisas e com pouca fibra, baixa deterioração pós-colheita das raízes, predominância de raízes com tamanho comercial, raízes superficiais (facilitar a colheita), coação rápida (menos de 30 minutos), qualidade da massa cozida (sabor, poucas fibras, entre outras). Além das características citadas anteriormente as plantas de mandioca devem ter: arquitetura favorável (elevada altura da primeira ramificação), ramas com pequena distância entre os nós, rápida brotação das manivas-sementes e crescimento inicial (vigor) e resistência a pragas e doenças (FIALHO *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2011).

As cultivares de mandioca de mesa são bastante cultivadas em áreas próximas aos centros urbanos (cinturões verdes), nas regiões do Centro-Sul do Brasil. A produção de mandioca de mesa é considerada uma atividade agrícola bastante significativa, sendo destinada principalmente a comercialização *in natura* e indústria de congelados. Essas variedades devem possuir um bom desempenho agrícola, qualidades sensoriais típicas e baixo potencial cianogênico para que não tenham sabor amargo e ofereçam riscos de intoxicação aos consumidores (VALLE *et al.*, 2004).

A utilização de variedades de mandioca de mesa biofortificadas pode reduzir a subnutrição em grande parte dos países em desenvolvimento. As raízes de coloração amarela são ricas em betacaroteno, que é o precursor da vitamina A responsável pela proteção contra a cegueira noturna. As raízes de mandioca com polpa de coloração rosada são ricas em licopeno, que é um antioxidante capaz de prevenir o câncer (CARVALHO *et al.*, 2000; NASSAR & ORTIZ, 2010).

As variedades utilizadas nas indústrias de amido e farinha devem possuir preferencialmente altos teores de amido nas raízes, elevada produtividade de raízes, arquitetura favorável ao plantio mecanizado, polpa branca, córtex e película claros, ausência de cintas nas raízes, destaque fácil da película, raízes grossas e bem conformadas (MATTOS & GOMES, 2000).

No setor industrial, a possibilidade de utilização da mandioca é ampla em função da versatilidade de seus produtos e derivados. Do ponto de vista econômico, o amido é o principal produto obtido a partir da mandioca, sendo empregado em vários setores da indústria como espessante (utiliza as propriedades de gelatinização de cremes, tortas, pudins e sopas), têxtil (engomagem, estamparia, acabamento e lavanderia), indústria de papel (dar corpo, acabamento e goma), detergentes biodegradáveis, plásticos biodegradáveis, perfuração de poços petrolíferos, fundição e na área farmacêutica (OTSUBO & PEZARICO, 2002). As variedades de mandioca açúcaradas ou também chamadas de mandiocabas, que armazenam açúcares livres nas raízes podem ser utilizadas na produção de álcool para as indústrias de cosméticos e combustíveis (VIEIRA *et al.*, 2011).

Para alimentação animal, as variedades devem apresentar alto rendimento de parte aérea e raízes, com boa retenção foliar e alto teor de proteína nas folhas. A parte aérea possui em torno de 18 a 20% de proteína bruta. É importante que a parte aérea destinada à alimentação animal contenha teores baixos de ácido cianídrico, com intuito de evitar a intoxicação dos animais. Entretanto, caso a parte aérea apresente elevados teores de HCN, o mesmo pode ser eliminado por meio da utilização de práticas como a ensilagem, trituração e secagem, entre outras. A parte aérea da mandioca e as raízes podem ser utilizadas na alimentação animal, na forma fresca, ensilada ou seca ao sol sob a forma de raspa das raízes e na forma de feno da parte aérea (MATTOS & GOMES, 2000).

A cadeia produtiva de mandioca apresenta três tipologias básicas às unidades doméstica, familiar e empresarial. A tipologia leva em consideração as interconexões entre a origem da mão de obra, o nível tecnológico, a participação no mercado e o grau de intensidade do uso do capital na exploração. A unidade doméstica é caracterizada por utilizar mão de obra familiar, não utilizar tecnologias modernas, pouca participação no mercado e dispor de capital de exploração de baixa intensidade. A unidade familiar já adota algumas tecnologias modernas, tem uma participação significativa no mercado e dispõe de capital de exploração em nível mais elevado. A unidade empresarial é caracterizada pela contratação de mão de obra de terceiros, sendo que essas juntamente com as unidades do tipo familiar são responsáveis pela maior parte de produção de raízes no país (SOUZA & OTSUBO, 2002).

A região dos Cerrados apresenta grande potencial para expansão da cultura da mandioca devido o seu alto potencial produtivo, ser de baixo risco, pouco exigente em insumos e tolerante a acidez e ao alumínio tóxico. Porém, nos últimos anos foram evidenciados problemas de baixa produtividade devido à utilização de variedades não selecionadas e a ocorrência de pragas e doenças (SOUZA & FIALHO, 2003).

Nos últimos anos, a Embrapa Cerrados vem atuando em projetos de pesquisa avaliando e selecionando variedades de mandioca através da pesquisa participativa, junto com agricultores e extensionistas (FIALHO & VIEIRA, 2011b). O principal objetivo da pesquisa participativa é a indicação de variedades com maior potencial produtivo, qualidades fisiológicas satisfatórias e maior aceitação pelos produtores e consumidores. Essa estratégia permite o intercambio de informações entre produtores, pesquisadores e extensionistas, visando aumentar a possibilidade de uso de variedades selecionadas e o treinamento dos produtores em novas técnicas de cultivos (FIALHO *et al.*, 2007; FIALHO & VIEIRA, 2011b).

3.3. Sistema de Propagação da Cultura

Segundo Conceição (1981) a mandioca é uma planta de propagação tipicamente agâmica ou assexuada, multiplicando-se comercialmente por fragmentos da haste ou rama, que são conhecidas popularmente por manivas-sementes. Embora o cultivo de mandioca para fins comerciais seja efetuado exclusivamente por meio de propagação vegetativa, através do plantio de manivas-sementes, a maioria dos acessos mantém o sistema de propagação sexual ativo (VIEIRA *et al.*, 2008). Do ponto de vista evolutivo, a manutenção do sistema de reprodução sexual permite a recombinação gênica constante o que confere à espécie maior facilidade de adaptação às mudanças ambientais e facilita o melhoramento genético (VIEIRA *et al.*, 2011). Por outro lado, a reprodução vegetativa facilita a fixação de genótipos superiores, selecionados consciente ou inconscientemente nas populações segregantes (ELIAS *et al.*, 2001; DUPUTIE *et al.*, 2009).

A seleção e preparo do material de plantio são fatores fundamentais para um satisfatório desenvolvimento da cultura, se executados adequadamente proporcionarão em incremento da produção a custos menos onerosos. No processo de seleção do

material devem ser observados aspectos agronômicos e fitossanitários. Dentre os aspectos agronômicos está a escolha da variedade, que deve ser feita de acordo com o objetivo da exploração e deve considerar a adaptação da mesma as condições ambientais da região. É mais indicado o plantio de uma única cultivar numa mesma área, evitando a mistura de cultivares que é muito comum em plantações mal conduzidas (MATTOS & GOMES, 2000). No aspecto fitossanitário é necessária a utilização de material sadio, livre de pragas e doenças já que a propagação de patógenos é maior nas culturas propagadas vegetativamente do que nas propagadas por meio de sementes sexuais (SOUZA & FIALHO, 2003).

As ramas utilizadas para o plantio devem estar maduras, provenientes de plantas 10 a 14 meses de idade e do terço médio da planta, devendo ser eliminada a parte superior herbácea que possui poucas reservas, e a parte basal geralmente muito lenhosa e com gemas inviáveis ou cegas (SOUZA & FIALHO, 2003). A viabilidade da maniva-semente está relacionada com seu conteúdo de umidade. Uma vez cortada à rama inicia-se o processo de desidratação, que é contínuo e irreversível. Um método indicativo para estimar o conteúdo de umidade na maniva-semente é verificar a velocidade com que o látex flui quando se faz um corte na haste da planta (MATTOS, 2002).

Segundo Mattos & Gomes (2000) as manivas-sementes devem ter um tamanho de 20 cm, conter de cinco a sete gemas, apresentar um diâmetro em torno de 2,5 cm, a medula deve ocupar 50% ou menos do diâmetro da maniva-semente. A qualidade fisiológica está diretamente relacionada à quantidade de reservas, que é influenciada pela massa da maniva-semente. Plantas com altos teores nutricionais produzem plantas com maior vigor inicial o que as torna menos vulneráveis a estresses abióticos e bióticos (LOPEZ, 2002). Segundo Fialho & Vieira (2011a) para o plantio de um hectare são necessários de 4 m³ a 6 m³ de ramas. Os mesmos autores relatam que é necessário destinar 20% da área plantada para fornecimento de manivas-sementes para o plantio da mesma área. O elevado peso e volume das manivas-sementes dificulta a multiplicação de um determinado genótipo, devido à dificuldade de manuseio e transporte (SANTOS *et al.*, 2009).

A disponibilidade de manivas-sementes de boa qualidade muitas vezes é dificultada devido à baixa capacidade de armazenamento por longos períodos. As ramas de mandioca não suportam baixas temperaturas em câmaras frias, sendo armazenadas

em condições de temperatura ambiente, que perdem a sua viabilidade quando armazenadas por períodos superiores há 90 dias (SANTOS *et al.*, 2009).

Um aspecto que limita o processo de expansão da cultura da mandioca tem sido a insuficiente disponibilidade de material de plantio, devido sua propagação vegetativa pelo sistema tradicional apresentar taxa de multiplicação muito baixa. Sendo assim o fator de multiplicação por planta por ano varia entre 5 a 10, sendo muito inferior ao fator de multiplicação dos cereais (FUKUDA & CARVALHO, 2006; FIALHO & VIEIRA, 2011; SANTOS *et al.*, 2009).

Outra limitação que tem sido observada em plantios sucessivos é a redução da qualidade fisiológica das manivas-sementes em razão do envelhecimento fisiológico provocado pela constante multiplicação. Além disso, muitas doenças principalmente as de natureza sistêmicas, podem ser transmitidas por meio de sucessivas gerações, tais como o vírus do mosaico comum, mosaico das nervuras, mosaico africano, vírus X, vírus do superalongamento, a bacteriose *Xanthomonas campestris* pv. *manihotise* as podridões radiculares provocada pelos fungos *Phytophthora* sp, *Fusarium* sp e *Diplodia* (LOPEZ, 1995; IWANAGA & IGLESIAS, 1994; OLIVEIRA & FIORIONE, 2006) .

O último fator está relacionado à capacidade de disseminação de pragas e doenças dentre e entre regiões, através de manivas-sementes de mandioca infectadas. As doenças de características sistêmicas são as mais facilmente transmitidas por estacas (FUKUDA & CARVALHO, 2006).

O cultivo *in vitro* de meristemas pode ser utilizado para aumentar a taxa de propagação da cultura e limpar plantas infestadas principalmente por vírus e bactérias, em espaços físicos reduzidos e período de tempo curto (LOZANO *et al.*, 1977; GRATAPAGLIA & MACHADO, 1998). Os materiais de propagação obtidos após o cultivo meristemático podem ter aumento de produtividade de 70 a 320%, sendo esse percentual reduzido ao longo de plantios sucessivos (OLIVEIRA *et al.*, 2000). Oliveira *et al.* (2000) obtiveram uma média de cerca de 230 plantas por matriz de mandioca utilizando a técnica de cultivo *in vitro* de meristemas.

Alguns fatores podem influenciar a micropropagação *in vitro* como: temperatura, umidade relativa, fotoperíodo, intensidade luminosa e fatores relacionados

ao crescimento e desenvolvimento vegetativo dependentes das condições do meio de cultivo e a aplicação de fitorreguladores (VIDAL *et al.*, 2011).

Porém, apesar das vantagens oferecidas pela cultura de tecidos, o custo com o investimento é alto, já que a técnica exige condições específicas para o desenvolvimento das plântulas e requer mão de obra especializada (SILVA *et al.*, 2002; VIDAL *et al.*, 2011).

Para solucionar os problemas citados anteriormente, o CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) localizado em Cali na Colômbia, desenvolveu o sistema de propagação rápida, que é um método simples e barato com objetivo de aumentar o fator de multiplicação por planta por ano.

4.0. Propagação Rápida da Mandioca

O sistema de propagação rápida de mandioca consiste na indução de enraizamento de estacas caulinares de duas gemas para produção de brotos herbáceos, e posterior enraizamento dos mesmos (CEBALLOS *et al.*, 1980).

Diversos trabalhos foram desenvolvidos no Brasil utilizando o método de propagação rápida, sendo obtidas taxas de propagação maior que pelo método tradicional (SILVA *et al.*, 2002; FUKUDA & CARVALHO, 2006; SANTOS *et al.*, 2009). Silva *et al.* (2002) afirmam que o método de multiplicação rápida pode ser utilizado para propagar as primeiras plantas obtidas por cultivo de tecido, proporcionando mais mudas por planta, além de ser uma alternativa viável quando há necessidade de introdução de novos acessos ou disponibilizar mudas em caso de escassez de manivas-sementes.

4.1. Instalações necessárias

Câmara de Propagação: A câmara de propagação é uma estrutura de formato retangular com 2,40 metros de comprimento por 1,20 de largura. Essa base de superfície retangular é composta de blocos de concreto, assentados um ao lado do outro de preferência em solo livre de vegetação. Utilizando uma mistura de areia e cimento, tapa-

se a base dos buracos dos blocos, com a finalidade de reter água para a manutenção da alta umidade no interior da câmara. No fundo da câmara coloca-se uma camada de cascalho ou brita, com aproximadamente 10 cm de espessura para facilitar a drenagem da água. Sobre a camada de cascalho ou brita adiciona-se substrato composto de solo permeável com um pH aproximadamente 6, até a borda dos blocos (CEBALLOS *et al.* 1980; SILVA *et al.* 2002).

Teto: O teto utilizado na câmara é uma estrutura em forma de cavalete, com 0,5 m de altura, 2,30 m de comprimento por 1,10 m de largura, podendo ser confeccionado de madeira ou alumínio e coberto com plástico transparente. Esse deve ficar na parte central dos blocos, para obter o equilíbrio entre o ambiente e a câmara, mediante a recirculação excessiva da umidade (FUKUDA & CARVALHO, 2006; CEBALLOS *et al.* 1980)

Câmara de Enraizamento: A câmara de enraizamento é composta por uma folha de compensado de 3 m² sendo sua superfície pintada de branco para auxiliar na reflexão dos raios solares, apoiada sobre cavaletes de madeira 0,5 metros de altura. O teto da câmara é uma estrutura constituída de madeira e plástico transparente, com altura 1,5 metros da superfície da mesa para evitar o aumento excessivo de temperatura dentro da estrutura (FUKUDA & CARVALHO, 2006; CEBALLOS *et al.* 1980).

4.2. Materiais necessários

São necessários: uma serra para cortar as manivas-sementes uniformes com duas gemas, estilete para cortar os brotos, produtos químicos para tratamento do solo, ferramentas e estacas. Uma vasilha metálica para esterilização da água que será utilizada durante o processo. Frascos de boca larga para colocar os brotos depois de cortados para posterior enraizamento, e frascos pequenos para o enraizamento individual dos brotos (CONCEIÇÃO, 1981).

4.3. Procedimento

Primeiramente deve-se desinfetar o solo da câmara de propagação com formol a 10% a uma quantidade de 10 litros por câmara. Após a aplicação do formol cobre-se a

câmara com um plástico durante 5 dias, depois esse deve ser retirado deixando descoberto por 5 dias para fazer o plantio das manivas-sementes (SILVA *et al.*, 2002). O substrato deve apresentar alta fertilidade, caso estiver baixa deve-se aplicar um fertilizante adequado para melhorar suas condições e assegurar uma boa brotação das estacas (CEBALLOS *et al.*, 1980).

As manivas-sementes devem ser selecionadas a partir de plantas sadias e vigorosas com idade entre 10 a 12 meses, preferencialmente o terço médio das plantas. Essas devem ser cortadas com 4 a 6 cm de comprimento com duas a 3 gemas, variando de acordo com a distância e número de entrenós das variedades (FUKUDA & CARVALHO, 2006).

Silva *et al.* (2002) afirmam que a serra deve ser desinfetada antes de cada corte, com hipocloreto de sódio, permanganato de potássio ou álcool. As manivas-sementes devem ser tratadas em submersão com uma solução de fungicida e inseticida durante 5 minutos, sendo que um litro de água deve conter 2,22 gramas de Dithane® M-45, 1,25 gramas de Manzate®, 2,2 gramas de Vitigran® e 5 gramas de Malathion® pó molhável (CEBALLOS *et al.*, 1980).

O plantio das manivas-sementes deve ser realizado na câmara de propagação na posição horizontal, sendo que a distância menor entre as gemas deve ficar para cima. As manivas-sementes devem ficar a uma profundidade de aproximadamente um centímetro e a umidade do solo deve ser mantida. Após o plantio, as câmaras devem ser cobertas com as campânulas feitas de plástico para uniformizar e acelerar a brotação das gemas pela manutenção da umidade e temperatura mais elevadas. Em cada metro quadrado da câmara, em média são plantadas 250 manivas-sementes de duas gemas (FUKUDA & CARVALHO, 2006; CEBALLOS *et al.*, 1980).

Decorridos 2 ou 3 semanas após o plantio obtêm-se um grande número de brotos. Quando os brotos alcançarem entre 8 a 10 cm de altura, os mesmos devem ser cortados 1 cm do colo da planta, com estilete devidamente esterilizado. Os brotos normalmente apresentam um grande número de ramificações sendo necessário cortar a maioria deixando somente a principal, com a finalidade de evitar que murchem. É recomendado cortar o talo dos brotos logo abaixo de uma gema, com objetivo de estimular o enraizamento (SILVA *et al.*, 2002). Segundo Oliveira & Fiorine (2006)

dependendo do vigor da minimaniva, durante os 4 meses que sucederam o plantio, a mesma continua produzindo novas brotações, até que a reserva da mesma acabe.

Após o corte devem-se colocar as estacas imediatamente em um recipiente com água fria, previamente fervida para deter a saída do látex, evitar a contaminação dos brotos por patógenos do ar ou sua oxidação (SILVA *et al.*. 2002; CEBALLOS *et al.*. 1980).

Os brotos depois de cessada a saída do látex são transferidos para frascos individuais, de tamanhos variáveis dentro dos quais há água fria previamente fervida. Estes frascos são levados para área de enraizamento. Os brotos conservam-se verdes logo após o corte, porém, após 2 ou 4 dias, murcha parecendo estar morto (CEBALLOS *et al.*.1980). .

Silva *et al.* (2002) afirmam que no oitavo dia, forma-se um calo na base e se recupera, dando início ao enraizamento. Aos 12 dias o crescimento radicular é mais notório e surgem novas folhas. Depois de um período de 20 dias, as raízes de absorção estão bem desenvolvidas com novas folhas e podem ser transplantadas. Segundo Ceballos *et al.*. (1980) as investigação realizadas pelo CIAT, indicam que é possível utilizar para enraizamento béqueres de 500 cm³ de capacidade, podendo ser colocados até 40 brotos adicionando-se água até um nível de 200 cm³, sendo esses levados para câmara de enraizamento.

Fukuda & Carvalho (2006) afirmam que após o enraizamento as mudas devem ser plantadas em sacos de polietileno com terra vegetal e deixadas por um período de 15 dias sob a proteção de uma tela de sombrite para aclimatação. Após esse período devem ser transplantadas definitivamente para o campo sendo necessário fazer a irrigação na área, até o estabelecimento das plantas. A multiplicação rápida é um processo simples e de baixo custo é mais eficiente em taxa de multiplicação que o sistema tradicional de propagação da mandioca.

Pelo sistema convencional, de uma planta adulta obtêm-se entre 10 e 20 manivas-sementes de tamanho comercial (20 cm), depois de um ano plantadas no campo, produzem entre 100 e 400 estacas. Utilizando o método de propagação rápida, de uma única planta pode-se cortar 150 estacas de dois nós, cada uma capaz de produzir 8 brotos, totalizando 1200. Após 12 meses, as plantas desenvolvidas de cada broto

podem produzir 10 a 20 manivas-sementes, obtendo-se um total de 12000 a 24000 estacas. A diferença do número de manivas-sementes demonstra a eficiência do método de propagação rápida (SILVA *et al.*, 2002).

Ceballos *et al.* (1980) afirmam que existem três vantagens no sistema de propagação rápida da mandioca. A primeira quando na região há pouca disponibilidade de manivas-sementes, esta é uma alternativa para a multiplicação rápida de variedades de boa qualidade e em quantidade suficiente, pois o processo permite obter material vegetativo sadio. Segunda vantagem que o sistema pode utilizado para multiplicar variedades de mandioca não infectadas por *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* bactéria causadora da murcha bacteriana. E finalmente, é caracterizado por ser um sistema simples barato podendo ser utilizado em qualquer propriedade.

5.0. Bacteriose da Mandioca

O primeiro relato da ocorrência da doença causada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* no Brasil foi realizado por Bondar (1912) no estado de São Paulo. Após algumas décadas esta doença foi registrada em quase todas as regiões do Brasil, desde o Rio Grande do Sul até a Amazônia (TAKATSU *et al.*, 1978 e VIÉGAS, 1976). Na Colômbia e na Venezuela a ocorrência da moléstia foi relatada por Lozano & Sequeira (1974), na África por Maraite & Meyer (1975) e na Ásia por Leu & Chen (1972).

De acordo com Souza & Fialho (2003) a bacteriose pode provocar perdas de produção de raízes em torno de 30%, entretanto, se forem utilizadas variedades suscetíveis, em localidades onde as condições climáticas são favoráveis ao desenvolvimento da doença as perdas podem ser totais. No Brasil a doença é mais problemática nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste que apresentam condições climáticas favoráveis, temperatura entre o dia e a noite na faixa 20 a 30 °C, respectivamente, e precipitação anual acima de 1200 mm.

Nos últimos anos Wydra *et al.* (2007) utilizaram variedades de mandioca locais e melhoradas em condições de campo em três ecozonas diferentes em Togo. Nessas áreas foi significativa a correlação negativa entre os principais sintomas da doença e a produtividade de raízes, em condições de alta pressão de inóculo. A imprevisibilidade

de surtos da doença torna a bacteriose um grande risco para a produção de mandioca principalmente nas regiões propícias a ocorrência da moléstia (HILLOCKS & WYDRA, 2002).

5.1. Sintomas

Os principais sintomas provocados são: manchas foliares, murcha, exsudação de látex, necrose do sistema vascular e morte descendente. A infecção primária é caracterizada pelo plantio de material vegetativo contaminado provocando acentuadas falhas de brotação, murcha de folhas novas, seguida da morte descendente das plantas em estágio inicial de desenvolvimento. Os sintomas provenientes de infecções secundárias no campo iniciam-se com aparecimento de pequenas manchas encharcadas e poligonais nas folhas. Estas manchas se desenvolvem tornando-se irregulares, podendo cobrir grandes extensões, resultando em coloração parda (Figura-1A). Nessa fase a bactéria se transloca para o pecíolo e haste através do xilema, iniciando a infecção sistêmica da planta. Após essa fase ocorre a exsudação de goma nas hastes (Figura-1B), com murcha (Figura-1C) e posterior secamento das folhas, que permanecem aderidas à haste e morte descendente (Figura-1D). Cortes longitudinais das ramas atacadas revelam necrose dos feixes vasculares, em casos mais graves as raízes exibem descoloração dos feixes vasculares e apodrecimento (FUKUDA & GOMES, 2005; MASSOLA & BEDENDO, 2005). A bactéria é capaz de invadir sistemicamente as sementes, podendo sobreviver por um longo período no interior de seus tecidos (HILLOCKS & WYDRA, 2002). Ceballos & Domínguez. (1980) afirmaram que a produção é mais afetada quando a infestação se manifesta entre o primeiro e sexto mês de idade da planta.



Figura 1- Principais sintomas da bacteriose em mandioca provocado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. (A) Mancha foliar; (B) Goma na haste ou pus; (C) Murcha foliar; (D) Morte descendente. Fonte: do autor.

5.2. Etiologia

Inicialmente essa bactéria foi descrita por Bondar (1915) como *Bacillusmanihotis* (Arthaud-Berthet). O sistema de classificação das bactérias foi se modificando com o passar dos anos, Starr (1946) denominou o agente causal da bacteriose como *Xanthomonas manihotis*. Dye & Lelliott (1974) incluiu *Xanthomonasmanihotis* ao grupo das *Xanthomonas campestris*, variando apenas a especificidade do hospedeiro, sendo denominada *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Utilizando a ferramenta de hibridização de DNA-DNA Vauterin *et al.* (1995), separaram grupos distintos dentro da espécie *Xanthomonas campestris* com base em estudos de homologia de DNA. Após esse estudo *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* passou a ser classificada como *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, que é a classificação atualmente aceita.

Essa Bactéria pertence ao filo proteobacteria, classe Gammaproteobacteria, ordem Xanthomonadales, família Xanthomonadaceae, gênero *Xanthomonas*, espécie *axonopodis*pv. *manihotis* (VAUTERIN *et al.*1995; BERGEY, 2001). Apresenta célula em formato de bastonete, que são móveis com um único flagelo polar (monotriquia). Possui parede celular delgada apresentando coloração Gram-negativa. Utiliza exclusivamente oxigênio comoceptor final de elétrons (aeróbio), não produz pigmentos amarelos (xantomonadina) típico do gênero, apresentando colônias apigmentadas em meio de cultura (Figura-2). Não é capaz de fermentar glicose, e de utilizar asparagina como a única fonte de carbono e nitrogênio, além de mostrar reação negativa no teste de oxidase de Kovacs (MASSOLA & BEDENDO,2005).



Figura 2- Colônias apigmentadas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em meio de cultura 523.

Anjos *et al.* (2011) e Massola & Bedendo,(2005)relataram que o principal meio de disseminação da bactéria, a longa distância, é a utilização de manivas-semente infectadas, principalmente em novas áreas de plantio, onde o patógeno não está presente. Sementes botânicas também constituem veículo de disseminação do patógeno (MASSOLA & BEDENDO,2005). Atualmente não existem campos de produção de material de plantio (manivas-semente) para suprir a demanda necessária para expansão das áreas de plantio. As barreiras sanitárias, não conseguem evitar entrada de materiais de propagação com problemas fitossanitários, sendo que muitas cultivares estão sendo introduzidas em outros estados sem uma prévia avaliação (FONSECA *et al.*, 2002).

A principal forma de disseminação da bactéria dentro do campo de cultivo é a chuva, que através dos respingos permite a liberação das células bacterianas presentes nas exsudações. No período da estação chuvosa há um aumento da severidade da doença nas áreas de plantio onde a bactéria está presente, aparecendo principalmente nas primeiras chuvas após o período seco atingindo seu máximo no pico da estação chuvosa (LOZANO, 1986; MASSOLA & BEDENDO, 2005; HILLOCKS & WYDRA, 2002). A penetração do patógeno na planta hospedeira ocorre através dos estômatos foliares ou via ferimentos causados por vento, trânsito de pessoas e animais, e a utilização de ferramentas e equipamentos contaminados (ANJOS *et al.* 2011). Lozano (1986) relatou que para um bom estabelecimento da bactéria no hospedeiro é necessário um período de 12 horas com umidade relativa entre 90-100% e com temperatura ótima entre 22 a 26°C. Geralmente os sintomas aparecem de 11 a 13 dias após a infecção.

Ikotun (1982) testou a capacidade de sobrevivência de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em vasos com três amostras distintas de solos, com pHs ácido e ligeiramente básico (4,2; 4,5 e 6,8) após a inoculação artificial utilizando 50 ml de suspensão com $3,0 \times 10^7$ células/ml. Logo após a inoculação houve um rápido declínio da concentração de bactérias no solo, não sobrevivendo em nenhum dos tipos de solos testados. Porém no solo quase neutro as bactérias sobreviveram por um período de tempo maior (42 dias) em relação aos solos ácidos (28 dias).

Ikotun (1981) relatou que plantas não hospedeiras encontradas em plantações de mandioca ou em torno delas, não são capazes de multiplicar *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em seus tecidos. Após a inoculação com patógeno, por aspersão das folhas, houve um pequeno aumento inicial na população de bactérias nos três primeiros dias, seguido por um declínio imediato em cinco dias, exceto para *Euphorbia repanda* onde o patógeno foi capaz de sobreviver por 12 dias. Em restos culturais a bactéria pode sobreviver por até seis meses (IKOTUN, 1981; MASSOLA & BEDENDO, 2005).

A severidade da doença depende diretamente da temperatura ambiente, já que em áreas onde as médias das temperaturas mínimas e máximas estão um pouco abaixo de 20 °C e 30 °C a severidade da doença é maior (MASSOLA & BEDENDO, 2005). Anjos *et al.* (2011) descreveram que a severidade da doença é maior durante o período de maior crescimento da planta, nas regiões com precipitação anual acima de 1200 mm acompanhadas de oscilações bruscas de temperatura entre dia e noite (maior que 10 °C)

por cerca de cinco dias. Hillocks & Wydra (2002) relataram que as fortes interações ocorrem entre o genótipo-ambiente e as perdas variam de acordo com a variedade, ecozona e o ano. Epidemias da doença e perda de produtividade variam de ano para ano, porém podem causar a mesma perda percentual, considerando a média ao longo de vários anos.

Takatsu *et al.* (1978) relataram que nas regiões norte e nordeste a doença não constitui um problema significativo. Na região nordeste, onde as condições climáticas são geralmente quentes e com prolongado período de estação seca, a bacteriose é quase desconhecida, pois nessas condições, a bactéria dificilmente consegue sobreviver nas plantas de mandioca por um período de tempo longo, já que as folhas caem e a infecção da haste ou nas estacas não progride. O mesmo autor afirmou que apesar da elevada umidade na região norte, a alta temperatura provoca a maturação mais cedo dos tecidos da planta resultando em condições desfavoráveis à colonização do patógeno. Segundo Mattos & Cardoso (2003) no estado do Pará, as condições ambientais são desfavoráveis ao aparecimento da doença, devido à pequena oscilação de temperatura diurna e noturna, quando a moléstia ocorre os sintomas ficam restrita nas folhas, na forma de manchas angulares.

Takatsu *et al.* (1978) realizou testes de patogenicidade em mandioca utilizando estipes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* isoladas de material infectado de varias regiões do Brasil, e demonstrou que existe variação de virulência entre as estirpes coletadas, desde fraca a forte agressividade. Silva *et al.* (2007) avaliou a virulência de dois isolados um proveniente da região de Uberlândia-MG e outro de Lavras-MG, utilizando 18 genótipos de mandioca, sendo 10 de cultivares de mesa e 8 cultivares de indústria. O isolado da região de Uberlândia foi mais virulento para as variedades de mandioca de mesa, já o isolado de Lavras foi mais virulento para as variedades de indústria.

A utilização da técnica de análise de polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP), apartir de DNA Cromossomico e rRNA ribossomal permitiu a identificação de cinco grupos com polimorfismos distintos de 326 estipes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* provenientes de 22 países. As estipes provenientes de países Africanos não apresentaram difereças de polimorfismo com sondas de rRNA, conferindo um alto grau de homogeniedade entre elas. Já as

provenientes de países da América do Sul apresentaram diferença, estabelecendo cinco grupos distintos, conferindo um alto grau de heterogeneidade entre as estipes oriundas de ecozonas distintas. A hipótese que as estipes de *Xam* foram introduzidas recentemente na África, sendo essas provenientes da América do Sul (VERDIER *et al.*, 1993). Restrepo *et al.* (2004) estudou a genética de populações de estipes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, em seis localidades envolvendo quatro diferentes zonas edafoclimática (ECZ) na Colômbia, usando a técnica de polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) e demonstrou que há uma alta variabilidade genética entre as estipes nas áreas amostradas.

A utilização de isolados distintos revelou diferenças na velocidade de aparecimento dos sintomas, refletindo em diferenças de agressividade entre os isolados (VERDIER *et al.*, 1994). Restrepo & Verdier (1997) observaram que o tamanho das áreas encharcadas nas folhas provocadas por diferentes estipes do patógeno variou muito, sendo classificadas em cinco grupos de patogenicidade, desde baixa a alta agressividade.

As plantas resistentes à bacteriose da mandioca possuem o tipo de resistência quantitativa (poligênica). A resistência é resultante da introgressão de genes de *Manihotis glaziovii*, é poligênica e de interação alélica aditiva. Esse tipo de resistência permite uma proteção mais duradoura sendo mais efetiva contra as possíveis variações do patógeno (LOPES & BOITEUX, 2012; MASSOLA & BEDENDO, 2005). Jorge *et al.* (2001) utilizando marcadores RFLP identificaram seis regiões do genoma da mandioca que promovem a resistência contra as estipes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, confirmando o caráter multigênico da resistência.

Kpémoua *et al.* (1996) revelaram que a resistência a bacteriose em mandioca está relacionada aos mecanismos de defesa da planta que inibem a colonização das bactérias nos vasos do xilema. Os principais mecanismos incluem o reforço de barreiras constitutivas como a lignificação dos tecidos, a deposição de calose, suberificação, acúmulo de compostos fenólicos e a oclusão do vaso (tilose).

O tamanho dos estômatos pode influenciar na resistência de uma variedade. As variedades que apresentam estômatos menores tendem a comportarem-se como mais resistentes comparados com aquelas que apresentam estômatos maiores (MASSOLA & BEDENDO, 2005).

O Teste de Screening auxilia na determinação de resistência de acessos de mandioca, que é realizado através da observação do desenvolvimento dos sintomas no campo em áreas com alta pressão de inóculo durante vários ciclos da cultura (HILLOCKS & WYDRA, 2002).

5.3. Controle

Hillocks & Wydra (2002) afirmaram que métodos integrados de controle devem ser utilizados como: controle cultural, sanitização da cultura, utilização de cultivares tolerantes medidas quarentenárias visando prevenir a entrada de estipes de alta virulência em áreas de baixa ou nenhuma infestação.

Dentre os métodos de controle, os curativos são ineficientes, devido ao hábito sistêmico da bactéria, que coloniza o sistema vascular das plantas (ANJOS *et al.*, 2011). A utilização de variedades tolerantes é o método de controle mais efetivo. Quando não se dispõe de variedades resistentes, recomenda-se a utilização de medidas auxiliares de controle: (1) utilização de manivas-sementes sadias; (2) rotação de culturas ou remoção dos restos culturais, seguida de aração e pousio por seis meses visando quebrar o ciclo de vida do patógeno; (3) restrição do movimento de pessoas das áreas afetadas para áreas que não possui o patógeno; (4) inspeção fitossanitária com a erradicação das plantas doentes; (5) utilização de uma cultura intercalar, visando reduzir a disseminação da bactéria entre as plantas; (6) plantio no final do período chuvoso, permitindo uma maior lignificação dos vasos no período da seca, visando o aumento da resistência à bacteriose (MASSOLA & BEDENDO, 2005; HILLOCKS & WYDRA, 2002).

6. Referências Bibliográficas

- ANJOS, J. R. N.; SILVA, M. S.; VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F. Principais Doenças da Mandioca no Cerrado. In: VIEIRA, E.A. & FIALHO, J. F..**Mandioca no Cerrado**. Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2011.p. 118-121.
- GARRITY, G. M.; WINTERS, M.; KUO, A. W.; SEARLES, D. B. **BERGEY'S manual of systematic bacteriology**. 2. ed. New York: Springer, 2001. 721 p.
- BOLHUIS, G. G. The toxicity of cassava roots.**Netherlands Journal of Agricultural Science**, v.2, n.3, p.176-185, 1954.
- BONDAR, G. **Moléstia bacteriana da mandioca**. Boletim de Agricultura, p.513-524. 1915.
- BONDAR, G. **Uma Nova moléstia bacteriana das hastes da mandioca**. Chácaras e Quintais, 5:15-18. 1912.
- CARVALHO, L. J. C. B.; CABRAL, G. B.; CAMPOS, L. **Raiz de reserva de mandioca: um sistema biológico de múltipla utilidade**, Brasília, CENARGEN, 2000. 16p.
- CEBALLOS, L. F.; DOMÍNGUES, O. C.**Descrição das Doenças da Mandioca**. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 1980. 23p.
- CEBALLOS, L. F.; TORO, J. C.; SILVA, J. R. da.**Sistema de Propagação Rápida de Mandioca**. Centro Internacional de Agricultura Tropical- CIAT, 1980. 12p.
- CONCEIÇÃO, A. J. **A Mandioca**. São Paulo: Editora Nobel, 1981. 382 p.
- CRUZ, J. L.; PELACANI, C.R. Fisiologia da Mandioca. In: **Curso Estadual Sobre a Cultura da Mandioca em Mato Grosso do Sul**, 1., 1998, Campo Grande EMPAER-MS (Palestras). p. 1 - 42.
- DUPUTÍÉ, A.; MASSOL, F.; DAVID, P.; HAXAIRE, C.; MCKEY, D. Traditional Amerindian cultivators combine directional and ideotypic selection for sustainable management of cassava genetic diversity. **Journal of Evolutionary Biology**, v.22, n.6, p.1317-1325, 2009.

DYE, d. W. & LELLIOT, R. A. **GENUS II. *Xanthomonas* Dowson. In: Buchanan, R. E. et al. eds. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.** Baltimore, The Williams and Wilkins Co., 1974. p. 243-249.

ELIAS, M.; PENET, L.; VINDRY, P.; McKEY, D.; PANAUD, O.; ROBERT, T. Unmanaged sexual reproduction and the dynamics of genetic diversity of a vegetatively propagated crop plant, cassava (*Manihot esculenta* Crantz), in a traditional farming system. **Molecular Ecology**, v.10, n.8, p.1895-1907, 2001.

FAO. **Cassava.** Disponível em <<http://www.fao.org>> Acesso em: 28Mar. 2014 a.

FAO. **Faostat database.** Disponível em <<http://www.faostat.org>> Acesso em: 28Mar. 2014 b.

FIALHO, J. F.; FUKUDA, W. M. G.; PEREIRA, A. V.; JUNQUEIRA, N. T. V.; GOMES, A. C. **Avaliação de Variedades de Mandioca de Mesa nas Condições de Cerrado do Distrito Federal.** Boletim de Pesquisa e desenvolvimento/Embrapa Cerrados, ISSN 1676- 918X, n.73, 2002. p.20.

FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. Manejo e tratos culturais da mandioca. In: FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. (Ed.). Mandioca no Cerrado: Orientações Técnicas. Planaltina/DF: Embrapa Cerrados, 2011a, p.59-91.

FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. **Seleção participativa de variedades de mandioca na agricultura familiar.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011 b. 76p.

FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A.; SILVA, M. S. Japonesinha: nova opção de mandioca de mesa para o Distrito Federal. **Comunicado Técnico**, Planaltina/DF, n° 137, 2007, 4p.

FUKUDA, C. & GOMES, J. C. **Bacteriose da Mandioca.** Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical: Folheto, 2005. 23 p.

FUKUDA, C.; OTSUBO, A. A. **Cultivo da Mandioca na Região Centro Sul do Brasil.** Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Sistema de Produção n° 7, versão eletrônica 2003.

FUKUDA, W. M. G.; CARVALHO, H. W. L. de. **Propagação Rápida de Mandioca no Nordeste Brasileiro.** Circular Técnica 45. Aracajú, SE Dezembro, 2006. 6p

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa-SPI; Embrapa-CNPq, 1998. v.1, p. 183-260.

HILLOCKS, R. J.; WYDRA, K. Bacterial, Fungal and Nematode Diseases. In: HILLOCKS, R. J.; THRESH, J. M.; BELLOTTI, A. C. Cassava: Biology, Production and Utilization. Wallingford/UK: CABI, 2002. p.261-280.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da Produção Agrícola (2013)**. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 27Mar . 2014.

IKOTUN, T. Studies on the host range of *Xanthomonas manihotis*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília: 1981, v. 6, p. 13-21.

IKOTUN, T. The survival of *Xanthomonas manihotis* (Arthaud-Berther) Starr in soil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília: 1982 v.7, p. 29-35.

IWANAGA, M.; IGLESIAS, C. Cassava genetic resources management at CIAT. International network for cassava genetic resources, Cali: International plant resources institute, 1994, p.77-86.

JORGE, V.; FREGENE, M.; VÉLEZ, C. M.; DUQUE, M. C. QTL analysis of field resistance to *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in cassava. Springer-Verlag, v.102, p.564-571, 2001.

FONSECA, N. S. J. da; GROXKO, M.; RODANTE, A.; TAKAHASHI, M.; PEQUENO, M. G.; FILHO P. S. V. **Cadeia Produtiva da Mandioca no Paraná: Diagnóstico e Demandas Atuais**. Londrina: IAPAR, 2002, 53P.

KPÉMOUA, K.; BOHER, B.; NICOLE, M.; CALATAYUD, P.; and GEIGER, J. P. Cytochemistry of defence responses in cassava infected by *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. **Can. J. Microbiol**, v.42, p.1131-1143, 1996.

LEU, L. S. & CHEN, C. J. **Bacterial wilt of cassava Caused by *Xanthomonas manihotis* (Arthaud Berthet) Starr**. **Plant Protection Bulletin**, 14 (1) : 17-26. 1972.

LOPES, C. A.; BOITEUX, L. S. Melhoramento para Resistência a Doenças Bacterianas. In: BORÉM, A.; FRITSCHÉ, N (Eds). Melhoramento de Plantas para Condições de Estresses Bióticos. Viçosa/MG: UFV, 2012. p.61-88.

LOPEZ, J. M. **Producción Comercial de Semilla de Yuca**. Yuca Boletín Informativo. Cali, v.19, n.2. 1995.

LÓPEZ, J. Semilla Vegetativa de Yuca. In: OSPINA, B.; CEBALLOS, H. (Ed.). **La Yuca en el Tercer Milenio: Sistemas Modernos de Producción, Processamiento, Utilização y Comercialización**. Cali: CIAT, 2002. P. 49-75.

LOZANO, J. C. & SEQUEIRA, L. Bacterial Blight of Cassava in Colombia: Epidemiology. **Phytopathology**, v.64, n.1, p.74-82, 1982.

LOZANO, J. C. Cassava bacterial blight: a manageable disease. **Plant Disease**, v.70, p. 1089-1093, 1986.

LOZANO, J. C.; SEQUEIRA, L. Bacterial blight of cassava in Colombia: Etiology. **Phytopathology**, v. 64, p. 83-88, 1974.

LOZANO, J. C.; TORO, J. C.; CASTRO, A.; BELLOTI, A. C. Produção de material de plantio de mandioca, Cali/Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1977. 28p.

MARAITE, H. & MEYER, J. A. *Xanthomonas manihotis* (Arthaud Berthet) Starr, **Causal agent of bacterial wilt and leaf spot of cassava in Zaire**, PANS, 21:27-37.1975.

MASSOLA, N. S. J. & BEDENDO, I. P. Doenças da Mandioca (*Manihot esculenta*). In: KIMATI, H. AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia**. V. 2 Doenças das plantas cultivadas. 4 ed., São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 449-455.

MATTOS, P. L. P. Práticas Culturais na Cultura da Mandioca. In: **Aspectos do Cultivo de Mandioca em Matogrosso do Sul**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Campo Grande: UNIDERP, 2002. p. 127-146.

MATTOS, P. L. P.; GOMES, J. C. O Cultivo da Mandioca. In: Circular Técnica nº 37, Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas/BA, 2000. 122p.

MATTOS, P. L. P; CARDOSO, E. M. R. **Cultivo da Mandioca para o Estado do Pará**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2003.

NASSAR, N.; ORTIZ, R. Melhorar a Mandioca. Revista Scientific. Brasil, p.72-77, 2010.

OLIVEIRA, M. A de; FIORINE, R. A. Análise de Crescimento em Mudas de Mandioca Provenientes de Estacas em Diferentes Recipientes para Cultivo. **Revista Raízes Amidos Tropicais**. Botucatu, v.2, p. 12-26, 2006.

OLIVEIRA, R. P.; GOMES, T. S.; VALARINHOS, A. D. Avaliação de um sistema de micropropagação massal de variedades de mandioca. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.35 n.12, p.2329-2334, 2000.

OTSUBO, A. A.; PEZARICO, C. R. A. Cultura da Mandioca em Matogrosso do Sul. In: OTSUBO, A. A.; MERCANTE, F. M.; MARTINS, C. S. **Aspecto do Cultivo da Mandioca em Mato Grosso do Sul**. Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados/MS, UNIDERP, 2002, p31-47.

REATREBO, S.; DURQUE, M. C.; VERDIER, V. **Characterization of pathotypes among isolates of *Xanthomonas axonopodispv. manihotis* in Colombia**. Plant Pathology. Vol 49, P. 680-687, 2000.

RESTREPO, S.; VELEZ, C. M.; DUQUE, M. C.; VERDIER, V. Genetic Structure and Population Dynamics of *Xanthomonas axonopodispv. manihotis* in Colombia From 1995 to 1999. Applied and Environmental Microbiology, v. 70, n. 1, p.255-261, 2004.

RESTREPO, S.; VERDIER, V. Geographical differentiation of the population of *Xanthomonas axonopodispv. manihotis* in Colombia. Applied Environmental Microbiology, v.63, n.11, p.4427-4434, 1997.

SANTOS, V. S.; SOUZA, A. S.; VIANA, A. E. S.; FILHO, J. R. F.; SOUZA, K. A.; MENEZEZ, M. C. **Multiplicação Rápida, Método Simples e de Baixo Custo na Produção de Material Propagativo de Mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Circular Técnica nº 44, 2009. p. 24.

SILVA, F. A. N.; FERNANDES, J. J.; JULIATTI, F. C.; MELO, B. **Reação de germoplasma de mandioca a *Xanthomonas axonopodis pv. manihotis***. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 28, n. 1, p. 3-10, jan./mar. 2007.

- SILVA, M. N da; CEREDA, M. P.; FIORINI, R. A. Multiplicação Rápida de Mandioca. **Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. p.187-197.
- SOUZA, J. S.; OTSUBO, A. A. Perspectiva e potencialidades de mercados para os derivados de mandioca. In: **Aspectos do Cultivo da Mandioca em Mato Grosso do Sul**. Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados/MS, UNIDERP, 2002, p.13-29.
- SOUZA, L. S.; FIALHO, J. F. **Sistema de produção de mandioca para a região do cerrado**. Cruz das Almas, BA: CNPMF, 2003. 61p.
- STARR, M.P. **The nutrition of phytopathogenic bacteria.I. Minimal Nutritive requirements of the genus *Xanthomonas***. J. Bacteriol., 51:131-143.1946.
- TAKATSU, A., FUKUDA, S. & PERIM, S. Epidemiological aspects of Bacterial Blight of Cassava in Brazil. In: MARAIT, H.; MEYER, J. A. **Diseases of Tropical Food crops**. Louvain-la-Neuve, Belgium, Procceding of an International Symposium, 1978.p.141-150.
- VALLE, T. L.; CARVALHO, C. R. L.; RAMOS, M. T. B.; MÜHÇEN, G. S.; VILLELA, O. V. Conteúdo Cianogênico em Progenies de Mandioca Originadas do Cruzamento de Variedades Mansas e Bravas. Revista Bragantia, Campinas/SP, v.63, n.2, p.221-226, 2004.
- VAUTERIN, L. HOSTE, B.; KERSTERS, K.; SWINGS, J. **Reclassification of *Xanthomonas***. International Journal of Systematic Bacteriology. July 1995, p. 472-489.
- VERDIER, V.; DONGO, P.; BOHER, B. Assessment of genetic diversity among isolates of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*. Journal of General Microbiology, v.139, p.2591±2601, 1993.
- VERDIER, V.; BOHER, B.; MARAITE, H.; GEIGER, J. P. Pathological and molecular characterization of *Xanthomonas campestris* isolates causing diseases of cassava (*Manihot esculenta*). Applied Environmental Microbiology, v.60, n.12, p.4478-4486, 1994.

VIDAL, A. M.; SOUZA, A. S.; SOUZA, F. V. D. Efeito da concentração do meio MS na micropropagação da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). In: Congresso Brasileiro de Mandioca, 14, 2011, Maceió/AL. Resumo... n. 241.

VIÉGAS, A. P. **Estudos sobre a Mandioca**. São Paulo: Instituto Agrônomo, 1976, 214 p.

VIEIRA, E.A.; FIALHO, J.F.; SILVA, M.S. Recursos genéticos e melhoramento da mandioca. In: Fialho, J. F.; Vieira, E. A. (Ed.). **Mandioca no Cerrado**: orientações técnicas. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011. p.25-35.

VIEIRA, E.A.; FIALHO, J.F.; SILVA, M.S.; FUKUDA, W.M. G.; FALEIRO, F.G. Variabilidade genética do banco de germoplasma de mandioca da Embrapa Cerrados acessada por meio de descritores morfológicos. **Científica**, v.36, n.1, p.56-67, 2008.

VILPOUX, O. Produtos de Mandioca e a Evolução de seus Mercados. In: OTSUBO, A. A.; MERCANTE, F. M.; MARTINS, C. S. (Ed). **Aspectos do Cultivo de Mandioca em Matogrosso do Sul**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Campo Grande: UNIDERP, 2002., p. 205-219, 2002.

WYDRA, K.; BANITO, A.; KPÉMOUA, K.E. Characterization of resistance of cassava genotypes to bacterial blight by evaluation of leaf and systemic symptoms in relation to yield in different ecozones. Euphytica v.155, p.337-348, 2007.

WYDRA, K.; ZINSOU, V.; JORGE, V.; VERDIER V. Identificação of Pathotypes of *Xanthomonas axonopodispv. manihotis* in Africa and Detection of Quantitative Trait Loci and Markers of Resistance to Bacterial Blight of Cassava. **The American Phytopathological Society**, Vol. 94 No. 10. P. 1084-1093. 2004.

Capítulo 1

Adaptação do método original de propagação rápida de
Manihot esculenta Crantz

RESUMO

A mandioca é uma planta da família das euforbiáceas, sendo cultivada principalmente para obtenção de raízes tuberosas ricas em carboidratos, utilizadas na alimentação humana e animal. Porém, a cultura da mandioca apresenta baixo índice de multiplicação pelo método de propagação convencional, no qual uma planta adulta é capaz de fornecer de 5 a 10 manivas-sementes. O objetivo deste trabalho foi testar o método de propagação rápida de mandioca e propor uma adaptação para utilização de miniestufas individualizadas e recipientes alternativos, na produção de brotos herbáceos, brotos enraizados e mudas aclimatadas dos segmentos basal, intermediário e apical do terço médio da rama de mandioca. O experimento foi realizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília em uma estufa do tipo *glasshouse*. Durante o experimento, as condições da estufa foram: índice de radiação luminosa em torno de 50 %, determinado por fotômetro automático, e temperatura média de 26,5 °C (com média das mínimas em torno de 12,5°C e média das máximas de 42,5°C) determinado por um termômetro convencional de máximas e mínimas. Foram escolhidas no campo plantas vigorosas e sadias da variedade Americana BGMC 1246, para a retirada de pequenos fragmentos da rama dos seguimentos basal, intermediário e apical. As ramas foram cortadas em minimanivas com aproximadamente 6 cm de comprimento com duas gemas cada uma. Três minimanivas foram plantadas em vasos plásticos de 2L, contendo uma mistura de latossolo vermelho cultivado de cerrado (LV), areia, esterco bovino curtido e vermiculita; nas seguintes proporções 2: 1: 1: 1, respectivamente. Após o plantio, sobre cada vaso foi colocado um recipiente plástico transparente, funcionando como campânula para a manutenção da alta temperatura e umidade no interior dos vasos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 3 repetições para cada tratamento. Durante o experimento foi avaliado o número de brotos herbáceos, porcentagem de brotação, número de brotos enraizados, porcentagem de brotos enraizados, número de mudas aclimatas e porcentagem de mudas aclimatadas produzida por cada minimaniva de duas gemas correspondente a cada tratamento. As características que mostraram diferenças significativas entre os segmentos testados foram o número de brotos herbáceos, porcentagem de brotação, número de brotos enraizados e número de mudas aclimatadas, sendo o segmento basal o mais indicados para a produção desses parâmetros comparada aos outros segmentos.

Palavras Chaves: *Manihot esculenta*, Reprodução, Viabilidade e Adaptação.

ABSTRACT

The cassava is a plant from the Euforbiaceae family, being mainly cultivated for the achievement of tuberous roots rich in carbohydrates, used in the human and animal feed. However, the cassava culture presents a low level of multiplication by the method of conventional spread, in which an adult plant é able to give from 5 to 10 seed manivas. The objective of this paper was to test the method of fast spread of cassavas and to propose an adaptation to the utilization of mini heaters individualized and alternative recipients on the production of herbaceous shoots, root shoots and acclimated seedlings from the basal segment, intermediate and apical from the third middle of the cassava foliage. The experiment was developed in the Experimental Station of Biology of the University of Brasilia in a glasshouse heater. During the experiment, the conditions of the heater were: luminous radiation level around 50%, determined by automatic photometer and middle temperature of 26,5°C (with minimum media around 12,5°C and maximum media of 42,5°C) determined by a conventional thermometer of maximum and minimum. It was chosen in the field vigorous and healthy plants from the American variety BGMC 1246, for the taken of small fragments of the foliage from the following basal, intermediate and apical. The branches were cut in minimanivas with 6cm high nearby with two gems each one. Three minimanivas were planted in plastic vases of 2L, with a mixture of red latosol cultivated in the cerrado (LV), sand, cattle manure and vermiculite; in the following proportions 2:1:1:1, respectively. After the plantation, over each vase it had been put a transparent plastic recipient, working as a bell for the maintenance of the high temperature and moisture in the interior of the vases. The experimental design used was the entirely caused with 3 repetitions for each treatment. During the experiment it was evaluated the number of herbaceous shoots, born percent, rooted shoots number and percent, acclimated number and percent of seedlings for each two gems minimanova correspondent for each treatment. The parameters showed meaningful differences among the tested segments, it was the number of herbaceous shoots , born percent, number of rooted shoots and number of acclimated seedlings, being the basal segment the most indicated for the production of these parameters compared to other segments.

Key Words: *Manihotesculenta*, Reproduction, Viabilityand Adaptation.

1.0.INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é um arbusto que pode chegar 1-4 m de altura, sendo comumente chamada de tapioca, manioc, mandioca e yuca em diferentes partes do mundo. A planta é uma dicotiledônea pertencente à família das euforbiáceas, exsudante de látex, gênero *Manihot* sendo reportada mais de 100 espécies pertencentes a esse gênero, sendo que a mandioca é a única espécie que é cultivada comercialmente.(ALVES, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2008). A espécie está presente em todo o território brasileiro, sendo extremamente importante em muitas regiões, tanto na alimentação humana quanto de animais (SANTOS *et al.*, 2009).

A mandioca é cultivada principalmente para obtenção de raízes tuberosas. Considerada uma fonte muito importante de alimento nas regiões tropicais, sendo a quarta fonte mais importante de energia nessas regiões, sendo superada apenas pelas culturas do arroz, cana-de-açúcar e milho. No mundo a mandioca é considerada a sexta fonte de energia mais importante para a dieta humana. A cultura é tolerante a solos pobres e condições climáticas adversas, sendo normalmente cultivada por pequenos agricultores como cultura de subsistência apresentando variada utilização culinária. (ALVES, 2002; SOUZA *et al.*; 2005).

Apesar de ser a quarta fonte energética mais importante nos trópicos, no passado a espécie não recebeu muita atenção por parte das instituições de pesquisa. Os investimentos em pesquisa para o estudo da cultura ficaram abaixo de outras culturas, como arroz, trigo, milho e batata, o que resultou em aumentos na sua produtividade considerados secundários. Essa situação atualmente vem mudando, principalmente nos países industrializados e em desenvolvimento onde vários grupos de pesquisa estão integrando todo o conhecimento científico para gerar variedades de mandioca mais produtivas e melhorar as variedades já existentes em relação a aspectos de rendimento de raízes, qualidades de proteínas, teor e qualidade de amido, tolerância à condições ambientais adversas, resistência à doenças e pragas, deterioração pós-colheita das raízes, presença de compostos cianogênicos e biofortificação com zinco, ferro e vitaminas, e na redução dos custos de produção (SOUZA *et al.*; 2005).

As variedades de mandioca de mesa que são conhecidas como aipim, macaxeiras, mandiocas mansas ou mandiocas doces, distinguem-se das bravas (destinadas às

indústrias) por apresentarem níveis de ácido cianídrico (HCN) inferiores a 100 ppm em suas raízes tuberosas, que podem ser utilizadas na alimentação humana sem causar intoxicações (WHEATLEY & CHUZEL, 2007).

A mandioca pode ser propagada por fragmentos das hastes ou por sementes verdadeiras. A utilização de sementes verdadeiras na multiplicação da cultura não é comum, ocorre principalmente sobre condições naturais e em programas de melhoramento genético. As plantas provenientes de sementes verdadeiras levam um longo tempo para se estabelecer e apresentam sistema radicular pivotante e diminui drasticamente a produtividade de raízes tuberosas quando comparadas as plantas provenientes de propagação vegetativa (ALVES, 2002).

A cultura da mandioca apresenta baixo índice de multiplicação pelo método de propagação convencional. A partir de uma planta adulta com doze meses de idade, é possível obter dez estacas de 15 a 20 cm de comprimento, sendo esse índice de multiplicação 1:10 (IITA, 1990; MATTOS & GOMES 2000). Comparando com outras culturas de importância econômica e alimentar, esse índice é muito baixo, já que os índices de multiplicação para a cultura da soja e do milho são 1:600 e 1:22500, respectivamente (LÓPEZ, 2002). O índice de multiplicação da cultura pode variar de 1:5 a 1:10, dependendo do tamanho e arquitetura das hastes do genótipo utilizado (FIALHO & VIEIRA, 2011; FUKUDA & CARVALHO, 2006).

As ramas de mandioca utilizadas nos processos de propagação se deterioram com o armazenamento devido a desidratação dos seus tecidos, perda da reserva energética pela brotação e ataque de pragas e patógenos, que ocasionam uma redução paulatina de quantidades de estacas aproveitáveis na medida em que aumenta o período de armazenamento. A maniva-semente não possui valor alimentar como em outras culturas. Como no caso de culturas produtoras de grãos como milho e feijão, e ainda, as culturas de propagação vegetativa como batata, inhame e cana-de-açúcar, cujos produtos obtidos não só são usados como sementes, mas apresentam valor alimentar (LÓPEZ, 2002).

O processo de seleção de manivas-sementes que serão utilizadas no plantio é fundamental para o sucesso produtivo da cultura, devendo ser considerada a idade da planta, diâmetro da haste, parte da planta a ser cortada e a densidades das gemas. Estas características determinam a capacidade de brotação das manivas (CORRÊA

&ROCHA, 1979; OKA *et al.*, 1987 e VIANA *et al.*, 2002). As ramas que serão utilizadas na obtenção de manivas devem ser provenientes de um mandiocal com 10 a 12 meses de idade, que corresponde o ponto de maturação fisiológica ideal para coleta das ramas maduras. A rama estará madura para o plantio quando o diâmetro da medula for menor ou igual que a metade de seu diâmetro (FIALHO & VIEIRA, 2011). O uso de manivas-sementes de boa qualidade tem influência direta no aumento da produtividade. Estudos demonstraram aumentos de produtividade de até 30% na produção de raízes tuberosas, sem alterações de outras práticas culturais ou utilização de insumos (RODRIGUES *et al.*, 2008).

As plantas com mais de 14 meses não são indicadas para fornecimento de material de plantio, devido à intensa lignificação dos seus tecidos, de forma semelhante às plantas mais jovem (menos de 10 meses), por apresentar grande proporção de tecidos verde e tenros. Apesar de brotarem, as manivas provenientes de plantas mais novas e pouco lignificadas são muito susceptíveis ao ataque de patógenos e insetos, além de desidratarem facilmente. Plantas com mais de 18 meses de idade apresentam os terços inferiores muito lignificados, atrasando o processo de emissão das brotações e brotos pouco vigorosos (LOZANO & BOOTH, 1982; MATTOS & GOMES, 2000).

Fatores ambientais bióticos (pragas e doenças) e abióticos (clima e solo) podem modificar consideravelmente as plantas individuais, afetando aspectos como altura, vigor, floração, ramificação, produção de raízes, conteúdo de amido e ácido cianídrico (HCN). Esses fatores quando adversos durante vários ciclos de propagação vegetativa podem produzir uma diminuição acumulativa na qualidade do material de plantio, ocasionando uma degeneração paulatina (LÓPEZ, 2002).

A cultura de tecido tem sido bastante utilizada para agilizar o desenvolvimento de muitas espécies vegetais de importância agrícola. A técnica de micropropagação pode ser utilizada para a multiplicação de materiais promissores de determinadas espécies, com as vantagens de prevenir a disseminação de pragas e doenças de uma geração outra, obtendo um elevado número de plantas em um curto intervalo de tempo (SOUZA *et al.*, 1995).

Apesar da micropropagação da mandioca ser um processo eficiente na produção de mudas em grande escala em excelente estado fitossanitário e um intervalo de tempo

curto, há limitações em relação a equipamentos, reagentes e instalações necessárias para a realização de trabalhos utilizando essa técnica (PIZA *et al.*, 2002).

Os pesquisadores do CIAT no início dos anos 80 propuseram o método de propagação rápida que consiste na indução de enraizamento de estacas de duas gemas para produção massiva de brotos herbáceos, para posterior enraizamento desses em água (CEBALLOSet *al.*, 1980). A utilização desse método possibilita a obtenção de grande quantidade de mudas em um período de tempo curto. O método de propagação rápida foi também realizado em diversas regiões brasileiras nos últimos anos, proporcionou a aumento do fator de multiplicação da cultura comparado com o método de propagação tradicional (SILVAet *al.*, 2002; FUKUDA & CARVALHO, 2006; SANTOSet *al.*, 2009; ALVESet *al.*, 2009; VIEIRA& MOURA, 2011; RODRIGUESet *al.*,2008).

A multiplicação rápida é utilizada para contornar o baixo índice multiplicação da cultura pelo método de propagação tradicional. Envolve o uso de técnicas que permitem aumentar a quantidade de material de plantio, devido ao aumento do índice de multiplicação da cultura. Essa técnica é utilizada pelos centros de pesquisas de agricultura internacional com IITA, que multiplicam as pequenas quantidades de mudas obtidas no programa de melhoramento genético da cultura. A metodologia é utilizada também para a multiplicação de materiais sadios, livres de patógenos e pragas, visando aumentar a sanidade dos materiais de plantio (IITA, 1990). Piza et al.. (2002) afirmam que método de propagação rápida é uma ferramenta importante quando há necessidade de introdução de novas cultivares ou fornecer mudas em casos de escassez de manivas-semente, em casos de ataques de pragas ou doenças ou geadas.

O material de propagação deve ser proveniente de plantas vigoras e sadias, sendo cortado em minimanivas de duas gemas utilizando serra manual ou elétrica, com 5 a 8 cm de comprimento dependendo do espaçamento entre as gemas. O plantio é realizado em uma câmara de propagação, sendo as minimanivas plantadas na posição horizontal com espaçamento de 10 cm entre as fileiras. O substrato utilizado na câmara de propagação deve ser fertilizado sendo composto de areia e solo, permitindo que as manivas brotem mais vezes. A câmara de propagação é uma estrutura retangular de 2,40 m de comprimento e 1,20 m de largura, constituída de blocos de concreto. Essa deve ser cobertas com uma estrutura de plástico transparente para a manutenção da temperatura e umidade elevadas, visando acelerar o crescimento das gemas e brotações. As irrigações

devem ser feitas com água de boa qualidade, já que a utilização de água contaminada pode resultar em não enraizamento dos brotos, devido à contaminação (SILVA *et al.*, 2002; FUKUDA & CARVALHO, 2006; SANTOS *et al.*, 2009; CEBALLOS *et al.*, 1980).

O corte dos brotos é realizado com uma lâmina, previamente desinfetada com álcool ou cloreto de sódio quando atingirem a altura de 10-15 cm a 1 cm da base e logo abaixo de um nó, deixando-se gemas que venham brotar novamente, permitindo que seja realizados novos cortes. O excesso de folhas presente nos brotos é retirado para evitar o murchamento devido à perda de água. Os brotos são colocados em um recipiente com água pura previamente fervida, visando obter condições adequadas ao enraizamento. Os brotos são colocados para enraizar na câmara de enraizamento, que é constituída por uma estrutura de madeira e coberta com plástico transparente. Vinte dias após o início do enraizamento, quando os brotos estiverem completamente enraizados prontos para serem transplantados em sacos de polietileno ou copos descartáveis. Após o transplante, as mudas devem ser colocadas em ambiente sombreado para facilitar a aclimação (FUKUDA & CARVALHO, 2006; SANTOS *et al.*, 2009).

A técnica de multiplicação rápida utiliza certas características morfológicas básicas das plantas de mandioca. As principais características são gemas axilares dormentes localizadas nos nós, devido ao fato da menor porção da haste ser mais velha, ter maior diâmetro e reservas nutricionais, maiores que as outras porções da haste, sendo facilmente distinguível a porção mais lenhosa, semi-matura e herbácea ao longo da haste. Entre os princípios básicos da propagação rápida: cada gema axilar presente na haste pode desenvolver um broto que é removido sendo capaz de regenerar devido à dominância apical, produção de hastes herbáceas é o principal objetivo, somente plantas saudáveis livres de pragas e doenças são usadas na produção de material de propagação saudável (IITA, 1990).

As estacas de dois nós plantadas nas câmaras de propagação, a quantidade de brotações produzidas em cada uma delas depende da variedade e do tipo de estaca utilizada. Variedades pouco vigorosas cessam rapidamente a produção de brotos, enquanto outras continuam produzindo por um período superior a um ano (LÓPEZ, 2002).

O objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de produção de brotos herbáceos, enraizados e mudas aclimatadas de estacas binodais, de diferentes idades de estacas do terço intermediário da rama de mandioca, pelo método de propagação rápida.

2.0.MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (EEB-UnB), em casa de vegetação com índice de radiação luminosa de 50% determinado por fotômetro automático modelo Asahi-Pentax SP-500 e temperatura média de 26,5°C (com média das mínimas de 12,5°C e média das máximas de 42,5°C) determinado por um termômetro convencional de máxima e mínima.

A variedade de mandioca de mesa conhecida na região do Cerrado como Americana que esta registrada no Banco Regional de Mandioca do Cerrado (BGMC) como BGMC 1246 foi escolhida para a realização do experimento em razão de apresentar elevada produtividade de raízes, baixo teor de HCN nas raízes e baixo tempo de cozimento das raízes (VIEIRA *et al.*, 2011).

Para a obtenção do material propagativo, foram selecionadas plantas vigorosas e sadias das quais somente foi obtido material propagativo do terço médio das hastes, tendo sido eliminada a parte basal da haste que é mais lignificada e com poucas gemas viáveis e a apical que é mais herbácea com pouca reserva nutricional. Posteriormente, o terço intermediário das ramas foi subdividido em três partes: basal do terço médio, intermediário do terço médio e apical do terço médio (Figura 1) e com o auxílio de uma serra afiada e uma mesa plana conferindo boa estabilidade para o corte foram obtidas minimanivas, com aproximadamente 6 cm de comprimento com duas gemas de cada segmento da rama separadamente. As minimanivas obtidas foram plantadas no sentido anti-horário em vasos plásticos de 2L, sendo mantidas três minimanivas por vaso. O substrato utilizado nos vasos foi uma mistura de latossolo vermelho cultivado de cerrado (LV) + areia + esterco bovino curtido + vermiculita (Figura- 2(A)), na proporção de 2:1:1:1, a cada vaso também foi acrescido 5 g do fertilizante NPK (4-14-8).

Nos vasos, as minimanivas foram cobertas parcialmente com a mistura, sendo mantidas as gemas voltadas para cima a fim de auxiliar o processo de brotação. Posteriormente, sobre cada vaso foi alocado um recipiente plástico transparente, visando à manutenção da umidade e da temperatura no interior dos vasos (Figura- 2(B)).

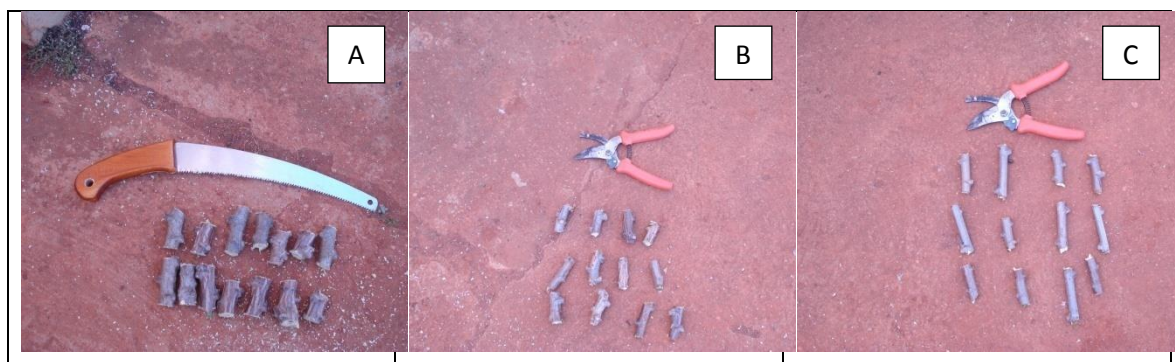


Figura 1- Formas de obtenção de minimanivas de duas gemas de diferentes idades de estacas provenientes do terço intermediário. (A) fragmentos basais; (B) fragmentos intermediários; (C) fragmentos apicais.

Os vasos foram identificados com o auxílio de uma caneta corretiva conforme o tipo de segmento e o respectivo número do vaso que variou de 1 a 3. Após esse procedimento, os vasos foram colocados sobre uma bancada de concreto localizada no interior da casa de vegetação, entre esses e a bancada utilizaram-se placas plástica vazada para auxiliar o processo de drenagem.

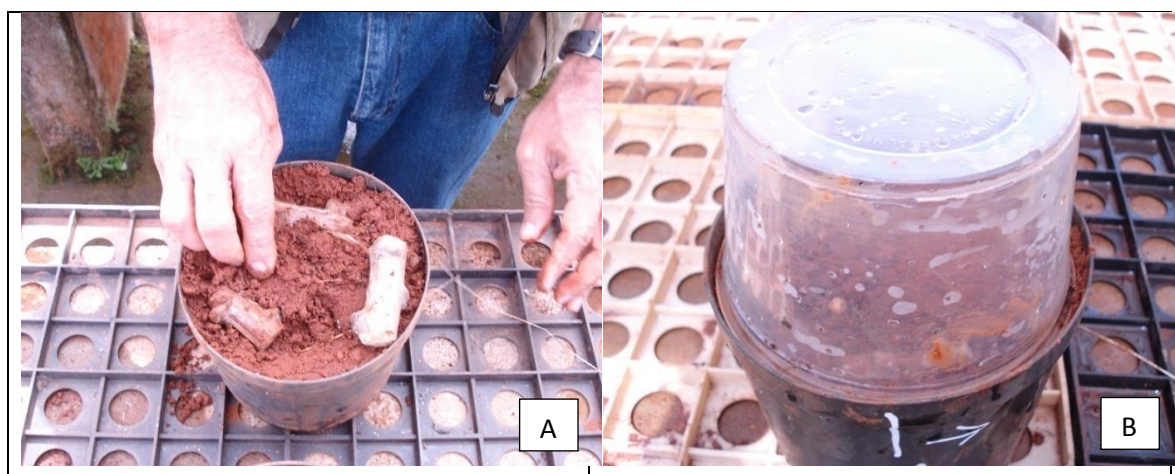


Figura 2- (A) Plantio das minimanivas de duas gemas nos vasos e (B) recipiente plástico transparente sobre os vasos.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 3 repetições para cada tratamento dos segmentos basal, intermediário e apical, totalizando 9 vasos.

Duas semanas após o plantio foram avaliados o número e a porcentagem de brotações emitidas por cada minimaniva das diferentes idades de estacas. Momento em que os brotos foram cortados a 1 cm do colo da planta com auxílio de uma lâmina afiada previamente esterilizada com álcool 96 °GL. O fragmento do broto remanescente foi mantido com ao menos uma gema para facilitar a emissão de nova brotação para posterior corte (Figura- 3 (A)).

Logo após o corte, os brotos foram alocados individualmente em copos de plástico descartáveis de 80 ml. Com o auxílio de um marcador de texto, os copos foram identificados conforme tipo de segmento, número do vaso, número da minimaniva no vaso, número do broto em cada minimaniva e número do corte. Os copos contendo os brotos foram sistematicamente mantidos com água até 90% da sua capacidade para evitar a perda do látex após o corte e auxiliar o processo de enraizamento.

Para estimular o enraizamento dos brotos, foram montadas pequenas câmaras de enraizamento utilizando vasos plásticos de 2L, preenchidos com latossolo vermelho previamente umedecido para evitar o aquecimento excessivo no interior da câmara. Em cada vaso, foram mantidos 4 copos cada um contendo um broto. Após esse procedimento, os vasos foram cobertos com um recipiente plástico transparente que funcionou como uma câmara úmida (Figura- 3 (B)).

Uma semana após o estímulo ao enraizamento iniciou-se a observação dos brotos quanto ao desenvolvimento das raízes e eventuais perdas. Foram realizadas avaliações da taxa de enraizamento uma em cada semana, sendo que na última foram contabilizados o número de brotos e a porcentagem de brotos enraizados com raízes desenvolvidas e com capacidade de absorção podiam ser transplantados (Figura- 3 (C)).

Os brotos enraizados foram transplantados individualmente para sacos de polietileno apropriados para mudas com 10 cm de largura, 20 cm de comprimento e 0,07 cm de espessura, sendo esses preenchidos com substrato obtido da mesma forma que o utilizado nos vasos de 2 litros.

Cada saco foi devidamente identificado com uma caneta corretiva conforme o tipo de segmento, número do vaso, número da minimaniva no vaso, número do broto em cada minimaniva e número do corte. Após o transplante, as mudas foram alocadas sobre as bancadas de concreto no interior da própria estufa, sendo irrigadas após o processo. As mudas foram irrigadas pelo sistema de microaspersão do tipo *sprinkler* presente na estufa em 2 turnos diários de 5 minutos cada .

Nas duas primeiras semanas, foi observada a quantidade de mudas que se aclimataram e as que morreram após o transplante (Figura- 3 (D)).



Figura 3- (A) Cortes dos brotos destinados para o enraizamento após duas semanas do plantio; (B) câmara de enraizamento; (C) brotos enraizados após 3 semanas; (D) mudas aclimatadas.

Semanalmente, logo após as observações ou corte dos brotos, os vasos onde foram plantadas as minimanivas foram irrigados utilizando-se um regador manual já que a água do sistema de irrigação não molhava o substrato devido à campânula sobre os vasos. As plantas daninhas que surgiram nos vasos foram retiradas manualmente para evitar a competição por água, nutriente e luz com a cultura estabelecida.

Os dados foram submetidos à análise de variância, a 5% de probabilidade de erro pelo teste F e ao teste de agrupamento de médias de Scott e Knott, a 5% de probabilidade de erro com uso do programa Genes (CRUZ, 2001). Os dados da porcentagem de brotação de gemas (PBG), da porcentagem de enraizamento de brotos (PEB) e da porcentagem de mudas aclimatadas (PMA) foram transformados em $\arcsen\sqrt{X/100}$ antes da análise de variância.

3.0.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância revelaram a existência de diferenças significativas ($P < 0,05$) entre minimanivas de duas gemas obtidas do seguimento basal, intermediário e apical do terço médio da haste da variedade Americana quanto aos caracteres: número de brotos por manivas (NB), porcentagem de brotação de gemas (PBG), número de brotos enraizados (NBE) e número de mudas aclimatadas (NMA) (Tabela 1-Anexo). Porém, não foram observadas diferenças significativas para as características: porcentagem de enraizamento de brotos (PEB) e porcentagem de mudas aclimatadas (PMA) (Tabela 1- Anexo).

Os brotos da variedade Americana atingiram a altura ideal para o corte (10 cm) em duas semanas, o que pode ser considerado uma boa velocidade de crescimento inicial, uma vez que Santos *et al.*. (2009), avaliando a capacidade de produção de brotações pelo método de propagação rápida utilizando as variedades Iará e Lagoa relataram que os brotos atingiram a altura ideal de corte 21 dias após o plantio. Fukuda & Carvalho (2006) relataram que as primeiras brotações podem ser cortadas de 15 à 20 dias após o plantio. De forma semelhante Vieira & Moura (2011) obtiveram brotações com altura ideal para corte 20 dias após o plantio. Porém, Rodrigues *et al.*. (2008) relataram que os brotos das variedades Pão e Aciolina utilizados no enraizamento em água foram cortados 40 dias após o plantio.

O número de brotos gerados por minimanivas (NB) pelo segmento basal do terço médio da haste (10,67) foi estatisticamente superior ao número de brotos gerados por minimaniva pelos segmentos intermediários do terço médio da haste (1,89) e apicais do terço médio da haste (0,55) (Tabela 2). A maior produção média de brotos por minimaniva do segmento basal do terço médio da haste pode ser explicada tanto pelo maior número de gemas que brotaram inicialmente nas minimanivas de duas gemas obtidas a partir desse segmento, quanto pela maior capacidade de rebrota dos mesmos após os cortes dos brotos, uma vez que para as minimanivas do segmento basal do terço médio da haste foi possível a realização de até sete cortes por minimaniva, enquanto para os segmentos intermediário do terço médio da haste e apical do terço médio da haste foram realizados de quatro a dois cortes, respectivamente. O número de brotos gerado por minimaniva pelo segmento basal do terço médio da haste obtido para a variedade americana no presente trabalho 10,67 (Tabela 2) pode ser considerado

elevado, uma vez que Alves *et al.* (2009) avaliaram a capacidade de produção de brotos herbáceos de duas variedades de mandioca pelo método de propagação rápida, utilizando estacas de duas gemas do terço intermediário da rama e relataram uma média de 3,12 e 1,62 brotos gerados por minimaniva, para as variedades Aciolina e Pão, respectivamente. De forma semelhante, Santos *et al.* (2009) avaliaram quatro variedades de mandioca de mesa e obtiveram média de 8,54 e 7,38 brotos/minimaniva para as variedades BRS mulatinha e Lagoa, e uma menor quantidade foi produzida pelas variedades BRS Tapioqueira e Irapá com médias de 5,53 e 4,12 brotos /minimaniva, respectivamente.

A porcentagem de brotações das gemas após duas semanas do plantio das minimanivas foi de 100% para segmento basal do terço médio da haste, 22,22% para intermediário do terço médio da haste e 33,33% para apical do terço médio da haste (Tabela 2). O segmento intermediário do terço médio da haste apesar de ter apresentado índice de brotação inicial menor que o apical, foi capaz de produzir mais mudas aclimatadas que as do segmento apical do terço médio da haste, principalmente devido ao maior número de corte dos brotos realizados, associado também a melhor qualidade dos brotos herbáceos e enraizados produzidos por esse segmento. Muitia (1996) avaliou a porcentagem de brotação inicial utilizando a cultivar Gangassol de minimanivas de duas gemas do terço médio das hastes, pelo método de propagação rápida que foi maior que 90% após duas semanas do plantio, que é bem próximo ao valor obtido utilizando o segmento basal do terço intermediário da variedade Americana. Alves *et al.* (2009) obtiveram índices de brotações de 66,10% para cultivar Aciolina e 26,21% para cultivar Pão, utilizando o mesmo método e idade de estacas descritas anteriormente. Silva *et al.* (2011) avaliaram a capacidade e qualidade de brotos herbáceos de mandioca produzidos pelo método de propagação rápida de quatro variedades, utilizando como substrato areia, serragem e casca de arroz carbonizada e a cultivar Cacau se destacou em relação às demais com um maior índice de velocidade de brotação, utilizando areia como substrato e também se destacou em relação às outras por produzir brotos mais vigorosos em todos os substratos testados, exceto para a característica do diâmetro do primeiro nó que foi maior em casca de arroz carbonizada.

O número médio de brotos enraizados foi superior para o segmento basal do terço médio da haste diferindo estatisticamente dos demais segmentos, com média de 9,89 brotos por minimaniva de duas gemas (Tabela 2). Os segmentos apicais e

intermediários do terço médio da haste apresentaram médias de 1,78 e 0,55 de brotos enraizados por manivas, não diferindo estatisticamente entre si. Os brotos herbáceos obtidos do segmento basal do terço médio da haste formaram sistema radicular mais desenvolvido com grande quantidade de raízes e pelos absorventes, diferente dos segmentos apical e intermediário do terço médio da haste que apresentaram sistema radicular pouco desenvolvido. Santos *et al.*. (2009) determinaram a quantidade de média de brotos enraizados por minimanivas de duas gemas de quatro variedades de mandioca de mesa. As variedades BRS Mulatinha, BRS Tapioqueira, Iará e Lagoa apresentaram médias de 4,05, 3,25, 2,17 e 2,62 brotos por minimaniva, respectivamente, valores inferiores ao obtido pelo segmento basal do terço médio da haste da variedade Americana. Os mesmos autores relataram que porcentagens de enraizamento foram em média de 47% para BRS Mulatinha, 59% para BRS Tapioqueira, 53% para Iará e 35% Lagoa. Rodrigues *et al.*. (2008) utilizando brotos herbáceos de duas variedades de mandioca de mesa produzidos pelo método de propagação rápida, para o enraizamento em água filtrada durante 20 dias, obtiveram porcentagens de enraizamento de 94% e 70% para as variedades Pão e Aciolina. Com base nos resultados obtidos é possível afirmar que a capacidade de enraizamento de brotos herbáceos varia entre as cultivares e diferentes idades de estacas em uma mesma cultivar.

A média do número de plantas aclimatadas por minimaniva foi maior para o segmento basal do terço médio da haste com 8,11 plantas por fragmento de duas gemas. Para os segmentos intermediários e apicais do terço médio da haste as médias foram de 1,55 e 0,22, respectivamente. A maior capacidade de produção de mudas aclimatadas pelos segmentos basais do terço médio das hastes pode ser explicada pela maior quantidade de reservas fisiológicas presentes em seus tecidos. Esse aspecto reflete em uma maior quantidade e qualidade dos brotos herbáceos e enraizados obtidos, possibilitando uma maior quantidade final de mudas aclimatadas em relação aos outros segmentos.

Silva *et al.*. (2002) e Fukuda & Carvalho (2006) obtiveram uma média de oito mudas aclimatada por minimanivas pelo método de propagação rápida, valor bem próximo à média do segmento basal do terço médio da haste da variedade Americana que foi de 8,11 (Tabela 2). Santos *et al.*. (2009) determinaram a quantidade de mudas aclimatadas após o transplante em copos descartáveis de duas variedades, onde as variedades BRS Mulatinha e Lagoa apresentaram médias de 2,94 e 2,45 mudas por

minimaniva, respectivamente. Esses mesmos autores determinaram o índice de sobrevivência que foi dado pela relação do número de plantas estabelecidas pelo número total de brotos enraizados, que para variedade BRS Mulatinha foi de 72% e 93% para variedade Lagoa.

Vieira & Moura (2011) utilizaram 25 acessos de mandioca para a determinação da quantidade de brotos herbáceos, enraizados e mudas aptas ao transplântio, utilizando o método de multiplicação rápida. Três acessos Mari, Kiriris e Poti destacaram-se em relação aos demais para os parâmetros listados anteriormente. Rodrigues *et al.* (2008) avaliaram a taxa de sobrevivência de brotos enraizados que foram transplantados em sacos plásticos com substrato, sendo que as mudas do clone Pão apresentaram taxa de sobrevivência maior que o clone Aciolina. Muitia (1996) obteve um índice de aclimação de mudas após o transplante direto no campo de 92%, a partir de mudas enraizadas da cultivar Gangassol produzidas pelo método de propagação rápida.

Tabela 2. Comparação de médias do número de brotos gerados por minimaniva obtidas a partir de minimanivas de mandioca com duas gemas do seguimento basal, intermediário e apical do terço médio da haste da Variedade Americana.

Segmento da haste	NB	PBG ^{**}	NBE	NMA
Basal	10,67 A [*]	100 A [*]	9,89 A [*]	8,11 A [*]
Intermediário	1,89 B	22,22 C	1,78 B	1,55 B
Apical	0,55 B	33,33 B	0,55 B	0,22 C
CV (%)	20,50	7,29	15,67	14,28

^{**} Análise de variância realizada com médias transformadas e médias originais apresentadas na tabela;
^{*} Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro, pelo teste de agrupamento de médias de Scott e Knott. (NB) número de brotos, da porcentagem de brotação de gemas (PBG), do número de brotos enraizados por minimaniva (NBE) e número de mudas aclimatadas por minimaniva (NMA).

A partir de uma planta do terço médio da variedade Americana foi possível obter duas manivas-sementes de 20 cm de comprimento de cada segmento: basal, intermediário e apical, sendo que cada maniva-semente pode ser cortada em 3 minimanivas de duas gemas. O seguimento basal do terço médio da variedade Americana, que produziu em média 8,11 mudas por manimaniva, considerando que cada planta pode fornecer seis minimanivas desse segmento, uma planta adulta é capaz de produzir em média aproximadamente 48 mudas aclimatadas. Considerando que para efeito de estudo cada muda dessa variedade seja capaz de produzir seis estacas de 20 cm ao final de 12 meses após o transplante, as mudas transplantadas no campo serão

capazes de fornecer 288 manivas. A taxa de multiplicação pelo método de propagação rápida utilizando o segmento basal foi de 1:288, que representa um aumento de oito vezes em relação às 36 manivas que seriam obtidas pelo método de propagação tradicional após um ano do plantio.

As quantidades médias de mudas aclimatadas obtidas dos segmentos intermediário e apical do terço médio da haste foram aproximadamente nove mudas por planta e uma muda por planta, respectivamente, considerando que cada planta forneceu seis minimanivas dos respectivos segmentos e produziram em média 1,55 e 0,22 muda por minimaniva. Após 12 meses do plantio, essas mudas fornecerão material para o plantio para 54 e seis covas. A utilização de minimanivas do segmento intermediário proporcionou um aumento de 0,5 vezes em relação ao método de propagação convencional. Já o segmento apical produziu apenas uma muda por planta após um ano, não sendo indicado para a produção massal de mudas pelo método de propagação rápida.

Silva *et al.*. (2002) relataram um aumento da taxa de propagação 120 a 240 vezes em relação ao convencional após 12 meses, sendo retirado em média 150 minimanivas de duas gemas de uma única planta e considerando uma taxa de multiplicação variando de 1:10 e 1:20 pelo método tradicional. Fukuda & Carvalho (2006) relataram que nas condições do nordeste brasileiro através do método de propagação rápida de uma única planta foi possível retirar 20 minimanivas que produziram 1600 plantas adultas após 10 meses do transplantio, sendo superior em 16 vezes ao método de propagação tradicional. Santos *et al.*. (2009) determinaram um aumento da taxa de multiplicação em relação ao convencional de 17 e 14 vezes para as variedades BRS Mulatinha e Lagoa, respectivamente, através do método descrito anteriormente. O aumento da taxa de multiplicação para os segmentos basal e intermediário do terço médio da haste da variedade Americana foram menores que as descritas anteriormente, devido à quantidade de minimanivas fornecidas por planta que foi menor para essa variedade.

4.0. CONCLUSÕES

As características de porcentagem de brotação (PBG), número de brotos gerados (NB), número de brotos enraizados (NBE) e número de mudas aclimatadas (NMA) demonstraram diferenças para diferentes estágios de maturação da rama, sendo o segmento basal do terço intermediário o mais promissor na produção dessas, utilizando estacas de duas gemas pelo método de propagação rápida.

A adaptação do método de propagação rápida permitiu a produção de uma grande quantidade de mudas de mandioca por minimanivas de duas gemas. Em relação ao método de propagação convencional, a utilização de minimanivas do segmento basal do terço intermediário da haste, permitiu aumentar em oito vezes a taxa de multiplicação da cultura ao final de 12 meses.

5.0.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, A. A. C. Cassava Botany and Physiology. In: HILLOCKS, R. J.; THRESH, J. M.; BELLOTTI, A. C. (Ed.). **Cassava: Biology, Production and Utilization**. New York, CABI, 2002. p.67-90.
- ALVES, J. M. A.; ARRUDA, K.R.; RODRIGUES, G. S.; UCHÔA, S. C. P.; ALBURQUEQUE, J. A. A. **Brotações de Manivas para Propagação Rápida**. In: Congresso Brasileiro de Mandioca, n° XIII, 2009, Botucatu/SP. P. 280-284.
- CEBALLOS, L. F.; TORO, J. C.; SILVA, J. R. da. **Sistema de Propagação Rápida de Mandioca**. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1 ed. Cali: CIAT, 1980. 12p.
- CORREA, H.; ROCHA, B.V. **Manejo da cultura da mandioca**. Informe Agropecuário, v.5, n.59/60, p.16-30, 1979.
- CRUZ, C.D. **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV, 2001. 648p.
- FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. Manejo e tratos culturais da mandioca. In: FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. (Ed.). **Mandioca no Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. p. 60-90.
- FUKUDA, W. M. G.; CARVALHO, H. W. L. de. **Propagação Rápida de Mandioca no Nordeste Brasileiro**. Circular Técnica 45. Aracajú, SE Dezembro, 2006. 6p
- IITA. Rapid Multiplication. In: IITA. **Cassava in Tropical Africa: Reference Manual**. Ibadan-Nigeria: International Institute of Tropical Agriculture, 1990. P. 29-40.
- LÓPEZ, J. Semilla Vegetativa de Yuca. In: OSPINA, B.; CEBALLOS, H. (Ed.). **La Yuca en el Tercer Milenio: Sistemas Modernos de Producción, Processamiento, Utilización y Comercialización**. Cali: CIAT, 2002. P. 49-75.
- LOZANO, J. C., BOOTH, R. H. Enfermedades de la yuca. In: CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Yuca, investigación, producción y utilización**. Cali, 1982. p. 421-462.
- MATTOS, P.L. P. de; GOMES, J de C. **O cultivo da mandioca**. Cruz das Almas, BA: Embrapa mandioca e Fruticultura, Circular Técnica n° 37, 2000. 122p.
- MUITIA, A. Comparação de métodos de multiplicação rápida da mandioca. 1996. 56 f. Trabalho de Licenciatura – Faculdade de Agronomia e de Engenharia Florestal, Maputo/Moçambique, 1996.

OKA, M.; LIMSILA, J.; SUPACHAI, S. **Relationship between characteristics and germination ability of cuttings in cassava** (*Manihot esculenta* Crantz). Japan Agricultural Research Quarterly, Tokyo, v. 21, p. 70-75, 1987.

PIZA, I. M. de T.; PINHO, R. S. Protocolo de micropropagação da mandioca. In: CEREDA, M. P. (Ed.) **Agricultura: Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, v. 2, 2002 p. 179 a 186.

RODRIGUES, A. R.; ALVES J. M. A.; UCHÔA, S. C. P.; ALBUQUERQUE, J. A. A.; RODRIGUES, G. S.; BARROS, M. M. **Avaliação da capacidade de enraizamento, em água, de brotações, ponteiros e estacas herbáceas de clones de mandioca de mesa**. Agro@mbiente On-line, Boa Vista, vol.2, no. 1, p. 37-45., 2008.

SANTOS, V. S.; SOUZA, A. S.; VIANA, A. E. S.; FILHO, J. R. F.; SOUZA, K. A.; MENEZEZ, M. C. **Multiplicação Rápida, Método Simples e de Baixo Custo na Produção de Material Propagativo de Mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Circular Técnica nº 44, 2009. p. 24.

SILVA, J. G. I.; SANTOS, M. R.; SOUZA, R. M.; PEREIRA, N. B. Protocolo para propagação rápida de mandioca nas condições de Urucuí-PI. In: Congresso Brasileiro de Agroecologia, VII, 2011, Fortaleza/CE. Resumos...p.5.

SILVA, M. N da; CEREDA, M. P.; FIORINI, R. A. Multiplicação Rápida de Mandioca. In: CEREDA, M. P. (Ed.). **Agricultura: Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002 p 187-197.

SOUZA, A. S.; PAZ, OMONTARROYOS, A. V. V.; GESTEIRA, A. S. **Protocolo de Micropropagação Rápida da Mandioca**. Biotecnologia em foco, n. 8, 1995.

SOUZA, A. S.; SOUZA, V. D.; SEREJO-SANTOS, J. A.; JUNGHANS, T. G. **Biotecnologia como Ferramenta para o Aumento de Competitividade da Mandioca**. Congresso Brasileiro de Mandioca, XI, 2005, Campo Grande/MS. P. 11.

VIANA, A. E. S.; LOPES, S. C.; SEDIYAMA, T.; CECON, P. R.; SILVA, A. A. **Avaliação de métodos de preparo de manivas de mandioca** (*Manihot esculenta* Crantz). Lavras: Ciênc. Agrotec, Edição especial, P.1383-1390, 2002.

VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; FALEIRO, F. G.; BELLON, G.; FONSECA, K. G.; CARVALHO, L. J. C. B.; SILVA, M. S.; MORAES, S. V. P.; OLIVEIRA, C. M.; DENKE, M. L. Characterization of sweet cassava accessions based on molecular,

quantitative and qualitative data. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. Brasília, v.11, p.232-240, 2011.

VIEIRA, M. E.; MOURA, E. F. **Obtenção de Mudanças de Mandioca pelo Método de Propagação Rápida com Diferentes Genótipos**. In: Anais do 9º Seminário de Iniciação Científica, 2011, Belém/PA. P.3.

WHEATLEY, C. C.; CHUZEL, G. Cassava: The Nature of the Tuber and use as a Raw Material. In: FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A.; SILVA, M. S. **Japonesinha: Uma Nova Opção de Mandioca de Mesa para o Distrito Federal**. Planaltina, DF, Comunicado Técnico nº137, p.4.2007.

6.0. Anexo

Tabela 1. Resumo da análise de variância do número de brotos gerados por minimaniva obtidas a partir de minimanivas de mandioca com duas gemas do seguimento basal, intermediário e apical do terço médio da haste da variedade Americana.

Fonte de Variação	GL	Quadrado médio					
		NB	PBG	NBE	PEB	NMA	PMA
QM _{tratamentos}	2	90,55*	3459,09*	77,23*	112,03	53,54*	1174,17
QM _{resíduo}	6	0,80	13,84	0,41	97,90	0,22	764,96
CV (%)	-	20,50	7,29	15,67	11,85	14,28	44,23

(NB) número de brotos, da porcentagem de brotação de gemas (PBG), do número de brotos enraizados por minimaniva (NBE), da porcentagem de enraizamento de brotos (PEB), do número de mudas aclimatadas por minimaniva (NMA) e da porcentagem de mudas aclimatadas (PMA) * = significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Capítulo 2

Reação de Acessos de Mandioca a *Xanthomonas* *axonopodis* pv. *manihotis*

RESUMO

A mandioca é componente cotidiano da refeição de milhões de pessoas no mundo em mais de 100 países, possuindo a capacidade de produzir raízes tuberosas com elevadas quantidades de amido. Porém, o potencial produtivo da cultura pode ser limitado pelo ataque de pragas e doenças. Uma das principais doenças que afetam a cultura é a bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. Essa bactéria pode provocar perdas totais da cultura em condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da doença. O objetivo desse trabalho foi avaliar a agressividade de três isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* provenientes de três regiões geográficas distintas do Brasil em genótipos de mandioca de mesa em condições de casa de vegetação. Inicialmente foram utilizados 17 acessos de mandioca, provenientes principalmente do banco de germoplasma da Embrapa Cerrados. Os materiais de propagação dos acessos passaram por um processo de triagem a fim de identificação de possíveis focos de contaminação pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. Pequenos fragmentos de cada rama foram retirados e depositados em meio 523, sendo incubados com temperatura de 28 °C por 48 horas. Após esse período, foi verificado o crescimento de colônias nos fragmentos das ramas, sendo selecionados quatorze acessos que apresentaram índice de contaminação inferior a 15 %. As ramas dos acessos selecionados foram cortadas com duas gemas cada uma; sanitizadas e tratadas com hipoclorito de sódio (5%) e Agrimicina, respectivamente. Após a sanitização, três minimanivas foram plantadas em cada vaso de 2L, sendo os vasos preenchidos com a mistura de latossolo vermelho, areia, esterco bovino curtido e vermiculita autoclavados. Quando os brotos apresentaram dez centímetros de altura foram cortados com estilete desinfetado, e colocados para enraizar em água. Três a quatro semanas após o início do enraizamento, os brotos enraizados foram transplantados em sacos de mudas contendo a mesma mistura autoclavada utilizada no plantio das minimanivas, sendo colocadas em bancadas de concreto no interior da casa de vegetação. As mudas foram transplantadas novamente em vasos plásticos de 2 L de capacidade quando atingiram altura de 25 cm. As estirpes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*) foram recuperadas em meio 523 por 48 horas a temperatura de 28 °C em uma estufa. Logo após a recuperação, para cada estirpe foi preparada suspensão bacteriana com concentração 1×10^8 UFC.mL⁻¹ determinada no espectrofotômetro com absorbância de 0,350 e comprimento de onda 550 nm. As plantas foram inoculadas quando apresentaram uma altura de 25-30 cm e

com 45 dias de idade nas folhas e hastes. A inoculação das folhas foi realizada utilizando uma tesoura esterilizada, após a imersão prévia na suspensão bacteriana, sendo cortados três folíolos em folhas diferentes por planta. A inoculação da haste foi realizada utilizando palitos de madeira esterilizados, imersos na suspensão bacteriana por dez minutos, sendo introduzido um palito por planta na gema da folha mais velha. Foram atribuídas notas aos sintomas individuais de mancha, murcha e complexo de sintomas de natureza sistêmica, durante o período de avaliação. A partir da associação das notas dos sintomas individuais foi possível obter o índice de doença, que foram utilizados para diferenciar os acessos de mandioca quanto a reação a *Xam*. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco repetições para cada tratamento, em esquema fatorial 14 genótipos de mandioca x 3 estirpes de *Xam*. Os resultados mostraram diferenças significativas entre os genótipos de mandioca e entre as estirpes de *Xam*, porém a interação genótipos de mandioca x estirpes de *Xam* não foi significativa. Considerando as três estirpes utilizadas no estudo, sete genótipos foram classificados como moderadamente resistente a partir do valor médio de índice de doença, semelhante aos genótipos BGMC 753 e BGMC 982 que são amplamente utilizados por agricultores do Distrito Federal devido à tolerância a bacteriose. A estirpe UnB 1111 foi mais agressiva que as estirpes UnB 1386 e UnB 1152 com base no valor médio do índice de doença, considerando os quatorze genótipos de mandioca utilizados no estudo.

Palavras Chaves: Variabilidade, Suscetibilidade, Patogenicidade e Resistência.

ABSTRACT

The cassava is a every day component of million people's meal all over the world in more than 100 countries, having the capacity of producing tuberous roots with a high starch quantity. However, the productive potential of this culture may be limited by the plague attack and sickness. One of the main sickness that affect the culture is the bacteriose caused by *Xanthomonas axonopodispv. manihotis*. This bacterium may cause total loss of the culture in climate conditions favorable to the sickness development. The objective of this paper was to assess the aggressiveness of three isolated of *Xanthomonas axonopodispv. manihotis* from three distinct geographic regions from Brazil in vegetation eatable cassava genotypes. On the beginning it was used 17 cassava access, which mainly came from the Embrapa Cerrados bank of germplasm. The propagation materials went through a trial process looking for the identification of possible focus of contamination by the *Xanthomonas axonopodispv. Manihotis* bacterium. Little fragments of each foliage were taken and deposited in between 523, being incubated with a 28°C temperature for 48 hours. After this period was verified the growth of colonies in some parts of the foliage, being selected fourteen access that showed a level of contamination lower than 15%. The selected access foliage were cut with two yolks each one; sanitized and treated with sodium hypochlorite (5%) and agrimicina, at the same moment. After the sanitization, three minimanivas were planted in each vase of 2L, being the vases filled with the mixture of the red latosol, sand, cattle manure and autoclaved vermiculite. When the shoots presented ten four inches high they were cut with stiletto disinfected and put to root on the water. Three to four weeks after the beginning of the rooting, the root shoots were transplanted in bags of seeding containing the same autoclaved mixture used on the minimanivas plant, being put on concrete banks in the middle of the vegetation. The seeding were transplanted again in plastic vases of 2L when they achieved 25cm height. The strains of *Xanthomonas axonopodispv. manihotis* (Xam) were recovered in middle 523 for 48 hours in a temperature of 28°C inside a heater. Right after the recovering, for each strain was prepared bacterial suspension with concentration $1 \times 10^8 \text{ UFC.ml}^{-1}$ determined by the spectrophotometer with absorbance of 0.350 and wave length 550nm. The plants had been inoculated when should 25 to 30 cm high with 45 days in leaves and rods. The leaf inoculation was realized by using a sterilized scissors, after the previous immersion in the bacterial suspension, being cut three leaflets in different leaves by plant. The rod

inoculation was realized using sterilized wooden toothpicks, drowned in the bacterial suspension for ten minutes, being introduced a toothpick for plant in the older gem leaf. It was given grades to the individual symptoms of stink, wilt and complex of systemic nature symptoms, during the period of the evaluation. From the association of the individual symptoms were possible to get the sickness level, which were used to distinguish the cassava access as their reaction to *Xam*. The experimental design was completely randomized with five repetitions for each treatment, in a factorial system 14 cassava genotypes x 3 *Xam* strains. The results showed meaningful differences between the cassava genotypes and between the *Xam* strains, however the interaction cassava genotypes x *Xam* strains wasn't meaningful. Considering the three strains used in the study, seven genotypes were classified as moderately resistant from the medium value of the disease level, similar to the BGMC 753 and BGMC 982 genotypes which are broadly used by the agricultures from Distrito Federal because of the bacteriose tolerance. The UnB 1111 strain was more aggressive than the UnB 1386 and UnB 1152 strains considering the middle value of the disease level, considering the fourteen cassava genotypes used on the study.

Keys words: Variability, Susceptibility, Pathogenicity and Resistance.

1.0.INTRODUÇÃO

A mandioca é um dos principais alimentos energéticos, sendo a terceira fonte de calorias (depois do arroz e do milho), componente cotidiano da refeição de milhões de pessoas em 105 países, principalmente naqueles em desenvolvimento (SOUSA *et al.*, 2011; FAO, 2012). A espécie é um arbusto perene cultivado principalmente em países tropicais, sendo importante na segurança alimentar dessas populações devido a sua rusticidade, que reflete na capacidade de produzir elevadas quantidades de amido em suas raízes em condições que outras espécies sequer sobreviveriam; da versatilidade de usos, da flexibilidade de plantio e colheita, e da importância sociocultural que representa para essas populações (VIEIRA, *et al.*, 2011).

O potencial produtivo da cultura pode ser limitado pelo ataque de pragas e doenças. A proteção contra pragas e doenças é um elemento crucial na produção da mandioca. Uma vez que mais de cinquenta doenças prejudicam o desenvolvimento da cultura sendo que fungos, bactérias, micoplasmas e agentes virais foram relatados (IITA, 1990). Uma das principais doenças que afeta a cultura nas áreas de cultivo é a bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodispv. manihotis* (FUKUDA& OTSUBO, 2003; LOZANO, 1986). Em condições favoráveis ao desenvolvimento da doença, temperatura entre 20-30 °C e precipitação acima de 1200 mm no período da estação chuvosa, as perdas podem chegar a 80-100% (MASSOLA& BEDENDO,2005; ANJOS *et al.*, 2011; VERDIER, 2002).

Os primeiros sintomas da bacteriose aparecem normalmente no início das estações chuvosas após o período de estação seca e apresentam o seu máximo no pico da estação chuvosa. As plantas infectadas mostram inicialmente murcha nas folhas jovens, manchas irregulares de aspecto aquoso nos folíolos, sintomas de natureza sistêmica como cancro e exsudação de goma (pus) nas hastes e morte descendente das folhas, culminando com a morte da planta. A bactéria invade a planta sistemicamente pelos vasos do xilema, que é responsável pelo transporte de água e sais minerais da planta (HILLOCKS & WYDRA, 2002; ANJOS *et al.*, 2011).

A disseminação do patógeno na mesma área de plantio ocorre pela chuva, que vincula células bacterianas presentes na exsudação das plantas infectadas para plantas saudáveis. A penetração da bactéria nas plantas saudáveis se realiza através dos estômatos e feridas presentes nas folhas. A umidade relativa alta durante 12 horas e temperatura

próxima a 23 °C são suficientes para o estabelecimento da doença. A disseminação da bactéria a longas distâncias é através do plantio de manivas-sementes contaminadas, principalmente em novas áreas onde a doença ainda não está presente (ANJOS *et al.*, 2011; LÓPEZ, 2002). Quando o material de propagação está contaminado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, podem ocorrer perdas de brotação superiores a 25%. Essa bactéria se restringe principalmente aos tecidos mais novos de ramas imaturas, devido a bactéria ter dificuldade de degradar tecidos mais lignificados, sendo muito difícil a detecção da presença da bactéria nas manivas mais maduras, que são normalmente usadas como manivas-semente (LÓPEZ, 2002).

Existe uma variação considerável entre as estirpes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em relação as suas características bioquímicas, fisiológicas, serológicas e moleculares (RESTREBO & VERDIER, 1997). Diferenças genômicas entre isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* foram verificadas através do tamanho dos fragmentos de restrição RFLP e o polimorfismo de tamanho de fragmentos amplificados (RESTREBO *et al.*, 1999).

Segundo Verdier (2002) foram constatadas diferenças de virulência entre isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. A variação de virulência foi observada na África e América Latina, que mostraram diferenças na velocidade de aparecimento dos sintomas, devido à variação de agressividade entre os isolados (VERDIER, 2002; SILVA *et al.*, 2007 a).

Segundo Hillocks & Wydra (2002) o controle da bacteriose na cultura da mandioca deve ser baseado em estratégias integradas de controle, que envolvem métodos culturais, utilização de variedades tolerantes e medidas de quarentena para evitar a introdução de cepas altamente agressivas para área com baixa ou nenhuma infecção. A tomada de decisão para o manejo da doença depende da disponibilidade informações adequadas sobre sua ocorrência, distribuição e importância da doença em uma zona ou localidade (ONYEKA, 2004).

Segundo Anjos *et al.* (2011) devido à bacteriose ser uma doença de hábito sistêmico, os métodos de controle curativos são inviáveis. A utilização de variedades tolerantes é o método de controle mais eficiente, mesmo em condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da epidemia, essas sofrem poucas perdas com a doença. Porém, quando não for possível a obtenção de materiais tolerantes, é recomendada a

adoção de medidas auxiliares de controle, como: plantio de manivas-semente sadias; evitar a utilização de manivas-sementes para o plantio provenientes de áreas com a ocorrência da doença; inspeção fitossanitária na área de cultivo com eliminação de plantas com sintomas típicos da doença; utilização de ferramentas desinfetadas e restrição do movimento de pessoas das áreas afetadas para as sadias e rotação de culturas ou pousio da área por pelo menos seis meses, eliminando os restos culturais (MASSOLA & BEDENDO, 2005; ANJOS *et al.*, 2011).

O objetivo do estudo foi avaliar a agressividade de três isolados de *Xanthomonas axonopodis*pv. *manihoti* provenientes das regiões Norte, Centro-Oeste e Sul do Brasil em quatorze genótipos de mandioca de mesa em condições de casa de vegetação.

2.0.MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Origem e Triagem do Material de Propagação

Para a realização do estudo foram selecionados seis acessos de mandioca de mesa conservados no Banco Regional de Mandioca do Cerrado (BGMC) sendo: i) três variedades recomendadas para o cultivo no Distrito Federal e Entorno BGMC 982 (Iapar 19/Pioneira), BGMC 753 (IAC 576-70/japonesinha) e BGMC 1289 (BRS Moura/Taquara Amarela); ii) a variedade recomendada para o cultivo na região do recôncavo Baiano e dos Tabuleiros Costeiros BGMC 1398 (BRS Dourada); iii) a variedade Taquari (BGMC 434) utilizada como padrão de resistência a bacteriose; iv) a variedade Vassourinha (BGMC 962) utilizada como padrão de susceptibilidade a moléstia. Além desses seis acessos, também foram utilizados no estudo 11 clones de mandioca de mesa do programa de melhoramento de mandioca da Embrapa Cerrados (497/08, 272/08, 273/08, 215/08, 279/08, 259/08, 450/08, 246/08, 83/08, 446/08 e 26/08). Todos os genótipos avaliados apresentam coloração da polpa das raízes de reserva amarela ou creme, com exceção das testemunhas BGMC 434 e BGMC 962 que apresentam coloração da polpa das raízes brancas. A preferência da avaliação de genótipos de mandioca de mesa com coloração da polpa das raízes amarelas ou creme foi motivada pela presença de β -caroteno (precursor da vitamina A) em raízes com esta coloração (IGLESIAS *et al.*, 1997; CHAVÉZ *et al.*, 2005; CARVALHO *et al.*, 2012).

De cada genótipo, foram obtidos de 7 a 12 ramas de 12 meses de idade em plantas aparentemente saudáveis. No laboratório de bacteriologia da UnB, as ramas de cada genótipo foram numeradas e submetidas à triagem a fim de identificação de possíveis focos de contaminação pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, agente causal da bacteriose nas amostras de tecidos das ramas. Para cada genótipo foi utilizada uma placa de petri contendo o meio 523 (Kado & Heskett, 1970), sendo essa enumerada conforme a quantidade de ramas de cada genótipo. Fragmentos dos tecidos da casca e entre casca foram retirados da parte superior de cada rama, e dispostos sobre a numeração correspondente de cada rama sobre a placa (Figura-1). As placas foram lacradas e colocadas na incubadora com temperatura de 28 °C por 48 horas.

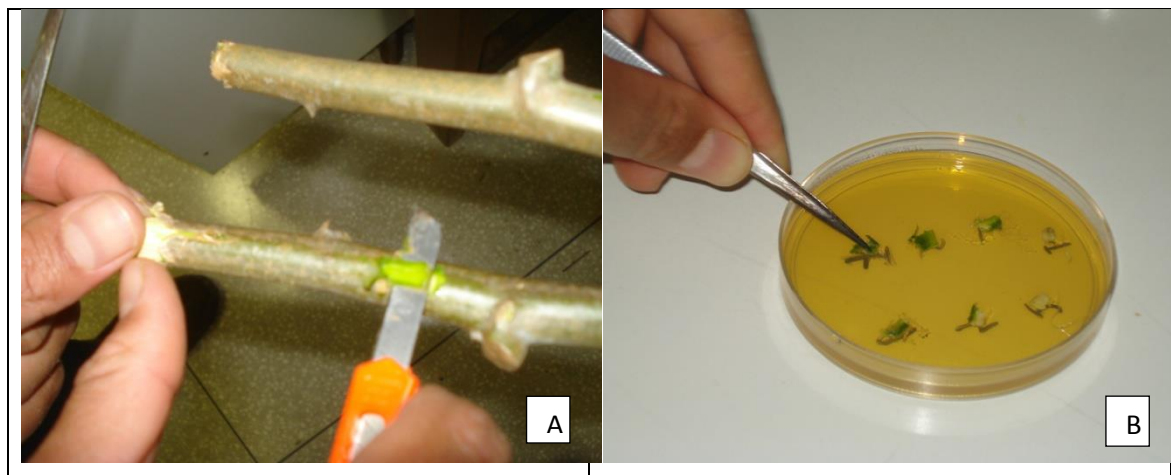


Figura-1 Retirada de fragmentos nas ramas dos acessos de mandioca (A) e deposição desses no meio 523 conforme a numeração de cada rama (B).

Após esse período, foi verificado o crescimento de colônias bacterianas nos fragmentos de tecido correspondente de cada rama. As ramas que apresentaram contaminação foram identificadas em cada feixe utilizando uma fita adesiva. O índice de contaminação de cada genótipo foi determinado pela razão entre o número de ramas contaminadas e número total de ramas. Os materiais que apresentaram índice de contaminação menor que 15% foram selecionados para a sequência do trabalho, já os que apresentaram índice maior ou igual a 15% foram descartados.

2.2.Corte, Sanitização e Tratamento de Manivas-sementes

Após a triagem e seleção dos genótipos a serem utilizados no estudo, foram descartadas as ramas que apresentaram alguma contaminação. Posteriormente, as ramas dos genótipos selecionados que não apresentaram contaminação foram seccionadas com o auxílio de um arco de serra em minimanivas com duas gemas, com aproximadamente seis centímetros de comprimento. Após o corte, os materiais de propagação correspondentes de cada genótipo foram alocados em baldes plásticos individuais e identificados, para facilitar os processos de sanitização e tratamento das minimanivas.

Uma solução de hipoclorito de sódio a 5% e água foi utilizada para sanitização dos materiais de propagação. Dois litros dessa solução foram colocados em cada balde contendo as minimanivas por 5 minutos, visando reduzir o número de microrganismos na superfície das mesmas, que podem prejudicar a brotação.

Logo após a sanitização, foi efetuado o tratamento das minimanivas com antibiótico Agrimicina® (Terramicina 2,94% + Estreptomicina 15%), com solução na

proporção de 200 gramas de Agrimicina® para 100 litros de água. Em cada balde foi colocado 2 litros da solução, por um período de 12 horas. O tratamento com o antibiótico visou reduzir uma provável contaminação por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* que não foi constatada no processo de triagem.

2.3.Plantio

O plantio das mudas de mandioca foi realizado de acordo com o método de propagação rápida, com algumas adaptações, como a utilização de vasos plásticos de 2litros de capacidade como câmara de propagação e utilização de substrato autoclavado no preenchimento dos vasos.

Três minimanivas foram plantadas no sentido anti-horário em cada vaso plástico de 2 litros, contendo uma mistura de latossolo vermelho cultivado de cerrado (LV) + areia + esterco bovino curtido + vermiculita, na seguinte proporção 2:1:1:1, adicionalmente, para cada 40 litros da mistura foram acrescentados 100 gramas de adubo N-P-K na formulação 4-14-8.

Os vasos foram preenchidos com a mistura autoclavada e identificados conforme os seus respectivos genótipos, com dez repetições para cada genótipo. Sobre os vasos foi colocado um recipiente plástico transparente, para manter a umidade e temperatura elevadas. Após o plantio os vasos foram alocados sobre as bancadas no interior da casa de vegetação.

Duas semanas após o plantio, foi constatada a presença de ácaro e oídio em algumas brotações. O controle foi feito utilizando 2 gramas por litro de produto comercial a base de 80% de Sulfur (Enxofre), para o controle do oídio, e 1 ml para um litro de água de produto comercial a base 1,9% abamectina, para o controle dos ácaros. Nos casos de novas reinfestações por oídio e ácaros, reaplicações foram realizadas com os produtos citados anteriormente.

2.4.Corte e Enraizamento dos Brotos

Os brotos foram cortados a 1cm do colo da planta com o auxílio de um estilete quando atingiram 10 cm de altura. Antes do corte de cada broto, a lâmina do estilete foi desinfetada com álcool 96 °GL.

Logo após o corte, os brotos de cada acesso foram colocados em um recipiente plástico transparente com capacidade de um l litro, completado cada 800 ml de água clorada previamente fervida. Os recipientes foram identificados conforme o genótipo, e transferidos para câmara de enraizamento. A Câmara de enraizamento foi construída com tubulações e conexões de PVC, com 2,5 m de comprimento, 0,6 m de largura e 0,6 m de altura e coberta com plástico transparente e colocada sobre a bancada de concreto no interior da estufa. Telhas plásticas em formato de losango foram dispostas sobre cada recipiente permitindo que os brotos permanecessem na posição vertical.

Três a quatro semanas após o início do enraizamento, os brotos que apresentaram raízes desenvolvidas e com capacidade de absorção, foram destinados ao transplântio.

2.5. Transplante dos Brotos Enraizados

Os brotos enraizados foram transplantados individualmente em sacos plásticos apropriados para mudas com 10 cm de largura, 20 cm de altura e 0,07 cm de espessura, sendo esses preenchidos com uma mistura autoclavada composta de latossolo vermelho, areia, esterco bovino curtido e vermiculita, nas seguintes proporções 2: 1: 1: 1, adicionalmente para cada 40 litros da mistura foram adicionados 100 gramas da formulação do fertilizante NPK na formulação (4-14-8).

As mudas transplantadas foram colocadas sobre as bancadas de concreto no interior da casa de vegetação, sendo irrigadas após o processo. As mudas foram irrigadas pelo sistema de irrigação tipo *sprinkler* presente na estufa em 2 turnos diários de 5 minutos cada.

2.6. Isolamento e Recuperação de estipes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*.

Fragmentos de plantas de mandioca apresentando exsudações bacterianas nas hastes foram coletados no campo experimental da Embrapa Cerrados localizado em Planaltina-DF. No laboratório de bacteriologia da UnB, esses fragmentos de caule foram transferidos para placas de petri contendo o meio 523 Kado & Heskett (1970), e mantidos por 72 horas a 28 °C na incubadora. Após o crescimento da massa bacteriana, uma amostra foi diluída em placas visando purificá-la. Logo após a purificação a amostra foi repicada em placas e conservada em água destilada. Esta estirpe de

Xanthomonas axonopodis pv. *manihotis*, foi incorporada a coleção bacteriológica da UnB, sendo identificada como UnB 1386.

Outras duas estirpes, UnB1152 originária de Manaus-AM e UnB1111 de Paranavaí-PR, pertencentes à coleção do laboratório de bacteriologia foram recuperadas. Tiras de papéis contendo o inóculo bacteriano foram depositadas no meio 523 Kado & Heskett (1970) e incubadas por 72 horas. Após o crescimento da massa bacteriana, essas foram purificadas através da diluição em placa e repicadas.

2.7. Preparo da Suspensão Bacteriana

A suspensão bacteriana foi preparada utilizando colônias novas e purificadas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* e água destilada esterilizada. Uma fração da massa bacteriana foi diluída em água até o meio tornar-se turvo. Parte dessa suspensão foi transferida para uma cubeta transparente, sendo medida a absorbância de 0,350 em espectrofotometro-UV 1203 Shimadzu, ajustado com comprimento de onda de 550 nm.

A concentração de bactérias na suspensão foi determinada através da diluição seriada. Por meio de uma pipeta automática, 1 ml da suspensão original foi transferida para um tubo de ensaio contendo 9 ml de água destilada esterilizada. O mesmo processo se repetiu para as diluições 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} .

As suspensões diluídas nas concentrações de 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} foram utilizadas no plaqueamento. Para cada concentração 0,05 ml foi depositada em cada placa contendo o meio 523 Kado & Heskett (1970), sendo essa espalhada ao longo da superfície da placa. Foram utilizadas quatro repetições para cada diluição, sendo estas alocadas em incubadora por 48 h a temperatura de 28 °C. Após esse período, foi aferido o número de colônias em cada placa em cada diluição, sendo determinada a concentração de 1×10^8 UFCml⁻¹.

2.8. Teste de Screening com Mudas Aclimatada

As mudas vigorosas dos acessos produzidas pelo método de propagação rápida foram selecionadas uniformemente com altura entre 25 a 30 cm. Essas foram transplantadas para vasos plásticos de 2 l de capacidade, utilizando o substrato autoclavado nas proporções anteriormente descritas. Após o transplante, as mudas

foram alocadas sobre bancadas de concreto no interior da casa de vegetação. Sobre a casa de vegetação utilizou-se uma tela sombrite com 30% de sombra, visando reduzir a incidência direta de raios solares sobre as plantas e a temperatura no interior da casa de vegetação. As mudas foram irrigadas pelo sistema de microaspersão do tipo *sprinckler* presente na estufa em 2 turnos diários de 5 minutos cada.

Uma semana após o transplante, as mudas foram inoculadas utilizando as três estipes de bactéria utilizada no estudo mais o controle com água destilada. As suspensões bacterianas das respectivas estipes foram diluídas em água destilada até a concentração de 1×10^8 UFC ml^{-1} , com absorbância de 0,350 e comprimento de onda 550 nm.

A inoculação das folhas foi realizada por meio da imersão previa de uma tesoura pequena e esterilizada na suspensão bacteriana e posterior corte de três folíolos em folhas diferentes (Figura-2A). Após o corte de cada folíolo, a tesoura foi novamente imersa na suspensão bacteriana. Na inoculação da haste foram empregados palitos de madeira esterilizados, imersos na suspensão bacteriana por 10 minutos. Um palito por planta foi introduzido na gema da folha mais velha (Figura-2B).

O monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar no interior da casa de vegetação foi realizado por um aparelho datalogger (ITLOG-75), programado para registrar os parâmetros de hora em hora.

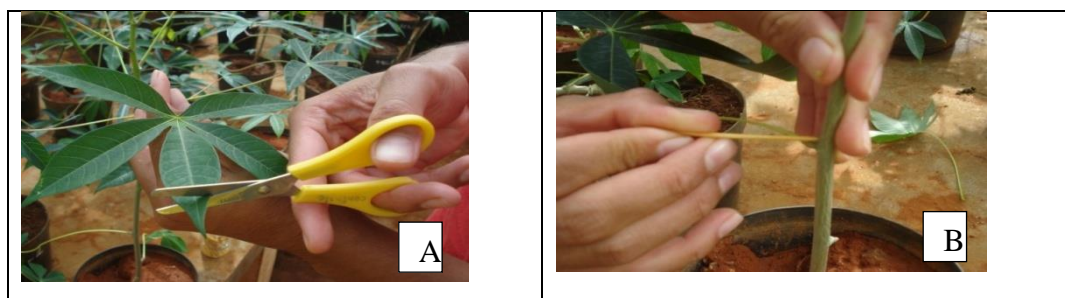


Figura 2- Método de inoculação de *Xam* nas folhas (A) e das hastes (B).

2.9. Avaliações

Uma nova metodologia de avaliação foi proposta a partir da relação entre sintomas de parte aérea e os decorrentes da infecção sistêmica dos tecidos pela ação da bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. Os sintomas da parte aérea foram aferidos por meio da quantificação de manchas e marchas foliares. Já a infecção

sistêmica foi aferida por meio da quantificação de rebrota com ou sem morte descendente, aparecimento de pus bacteriano nas hastes e morte descendente.

Os sintomas da parte aérea foram avaliados individualmente conforme a variação da velocidade de aparecimento ao longo das semanas. Para os intervalos de variações de aparecimento dos sintomas foram atribuídas notas, que variaram em um intervalo de 1 a 6.

Os sintomas de manchas foliares foram avaliados da primeira à sexta semana após a inoculação (Tabela 1). As murchas foliares foram avaliadas da segunda à sétima semana após a inoculação (Tabela 2).

Tabela 1- Escala de notas atribuídas aos diferentes intervalos de aparecimento de manchas foliares inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*.

Notas	Sintomas
1	Sem mancha
2	Aparecimento de manchas foliares típicas da doença na 5ª semana ou mais após a inoculação
3	Aparecimento de manchas foliares típicas da doença na 4ª semana após a inoculação.
4	Aparecimento de manchas foliares típicas da doença na 3ª semana após a inoculação.
5	Aparecimento de manchas foliares típicas da doença na 2ª semana após a inoculação.
6	Aparecimento de manchas foliares típicas da doença na 1ª semana após a inoculação.

Tabela 2- Escala de notas atribuídas aos diferentes intervalos de aparecimento de murchas foliares inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*.

Notas	Sintomas
1	Sem Murcha
2	Aparecimento de folhas murchas típicas da doença na 6 ^o semana ou mais após a inoculação
3	Aparecimento de folhas murchas típicas da doença na 5 ^o semana após a inoculação
4	Aparecimento de folhas murchas típicas da doença na 4 ^o semana após a inoculação
5	Aparecimento de folhas murchas típicas da doença na 3 ^o semana após a inoculação
6	Aparecimento de folhas murchas típicas da doença na 2 ^o semana após a inoculação

A presença dos sintomas de natureza sistêmica foi determinada durante todo o período de avaliação que correspondeu a dez semanas após a inoculação. Para cada sintoma foi atribuída uma nota que variou de 1 a 6 (Tabela 3). Esses sintomas foram denominados de complexo de sintomas de natureza sistêmica (Figura 3).

Tabela 3- Escala de notas atribuídas aos diferentes sintomas de natureza sistêmica inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*.

Notas	Sintomas
1	Sem sintomas da doença
2	Recuperação parcial sem morte descendente do ápice da planta
3	Recuperação parcial com morte descendente do ápice da planta
4	Presença de pus ao longo da haste sem ou com recuperação parcial
5	Morte descendente da planta, com presença de pus e recuperação parcial
6	Morte descendente da planta, com presença de pus e sem recuperação parcial



Figura 3- Mudas sem sintomas (A) e mudas com o complexo de infecção sistêmica: Recuperação parcial sem morte descendente (B), Recuperação parcial com morte descendente (C), Presença de Pus, sem ou com morte descendente (D), Morte descendente com pus e recuperação parcial (E), Morte descendente com pus e sem recuperação parcial (F).

As variações das escalas de notas para os sintomas de mancha, murcha e complexo de sintomas de natureza sistêmica foram colocadas em três eixos do plano cartesiano (Figura 4). As relações entre os sintomas foram determinadas pelas duas áreas do triângulo retângulo formados pelas variações das unidades das escalas de notas. O índice de doença (ID) correspondeu à soma das áreas dos dois triângulos retângulos sendo representado pela seguinte fórmula:

$$ID = \frac{(MA \times MU)}{2} + \frac{(CSNS \times MU)}{2}$$

Onde: (MA) corresponde ao sintoma de mancha, (MU) ao de murcha e (CSNS) ao complexo de sintomas de natureza sistêmica.

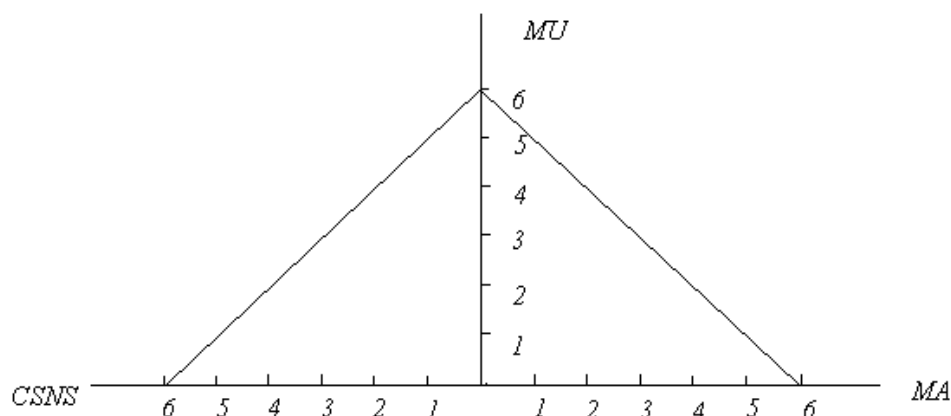


Figura 4- Representação das variações das escalas de notas para os sintomas de mancha (MA), murcha (MU) e complexo de sintomas de natureza sistêmica (CSNS). Área máxima do triângulo retângulos formado dessa associação.

Após a obtenção das áreas médias representada pelo índice de doença (ID), a classificação da reação dos acessos de mandioca a *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* foi realizada utilizando as variações do ID presente na Tabela 4:

Tabela 4- Faixas de resistência e suscetibilidade, com base nas médias das áreas do índice de doença (ID) relacionado aos sintomas de bacteriose.

Faixas	Classificação
1,0	Imune (Im)
1,1-5,0	Altamente Resistente (AR)
5,1-10	Resistente (R)
10,1-15	Moderadamente Resistente (MR)
15,1-20	Moderadamente Suscetível (MS)
>20	Suscetível (S)

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 14(genótipos de mandioca) x 3 (estirpes de *Xam*), com cinco repetições para cada tratamento. A análise de variância foi realizada utilizando o teste F e agrupamento de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico Assistat.

3.0.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a triagem, os genótipos selecionados foram submetidos aos testes de screening, visando a determinação do grau de resistência a diferentes estirpes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* dos mesmos. Os clones 279/08, 450/08 e 246/08 foram descartados em razão de terem apresentado índice de contaminação superior a 15 % (Tabela 5).

Tabela 5- Índice de contaminação por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em porcentagem dos genótipos avaliados.

Genótipos	Índice de Contaminação (%)
BGMC 962 (Vassorinha)	0
BGMC 434	10
BGMC 753 (IAC 576-70 Japonesinha)	0
BGMC 1289 (BRS Moura)	0
BGMC 1398 (BRS Dourada)	0
497/08	0
272/08	12,5
273/08	0
215/08	14
259/08	0
BGMC 982 (Pioneira)	0
83/08	12,5
446/08	0
26/08	12,5
279/08	29
450/08	29
246/08	25

A triagem do material de propagação é de suma importância antes da realização de testes que visam estabelecer os graus de resistência de genótipos de mandioca à bacteriose. Apesar das manivas-semente serem provenientes de plantas sem sintomas visuais da moléstia, algumas ramas de determinados genótipos apresentaram contaminação, já que a grande maioria dos acessos disponibilizados pela Embrapa Cerrados é oriunda de áreas com alta pressão de inóculo do patógeno. Como no caso do acesso BGMC 434, que possui elevada resistência à bacteriose e apresentou índice de contaminação de 10%, que apesar da presença da bactéria em seus tecidos, não foi capaz de manifestar sintomas típicos da doença.

A temperatura e a umidade relativa do ar foram aferidas de hora em hora, totalizando 1740 leituras desses parâmetros no período de avaliação do experimento. A temperatura média no período de avaliação foi de 23,9°C, com máxima de 30,2°C e

mínima de 16,4°C. A umidade relativa do ar média foi de 86,8% no período de avaliação, com máxima de 99,9% e mínima de 49,9%. A infecção e o estabelecimento da bactéria nos tecidos das plantas hospedeiras requerem alta umidade relativa do ar e temperatura próxima a 23°C (VERDIER et, al., 2002).

Os resultados da análise de variância revelaram a existência de diferenças significativas a 5% de probabilidade de erro, em relação às médias das notas dos sintomas individuais de mancha (MA), murcha (MU), complexo de sintomas de natureza sistêmica (CSNS) além do índice de doença (ID) que foi obtido através da interação dos sintomas individuais, utilizando os quatorze acessos de mandioca de mesa, para as três estirpes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* utilizadas no estudo (Tabelas 6, 7 e 8).

Por meio da média do índice de doença (ID), foi possível separar os genótipos de mandioca em cinco grupos de resistência à *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* (*Xam*). Considerando as três estirpes de *Xam*, foi observada a diferença quanto à reação dos genótipos de mandioca, que permitiu o agrupamento em diferentes classes de resistência de acordo com a estirpe utilizada (Tabelas 6, 7 e 8).

Os genótipos de mandioca inoculados com a estirpe UnB 1386 mostraram diferenças entre si pelo método de agrupamento de médias, em relação aos valores do índice de doença (ID) utilizado na classificação dos acessos quanto ao grupo de resistência (Tabela 6). O genótipo BGM 962 foi classificado como suscetível, com valor médio de ID de 22,10, assim como Fialho *et al.*. (2002) classificaram essa variedade como suscetível em condições de campo. Os genótipos 26/08, 83/08 e BGM 1398 foram classificados como moderadamente suscetíveis, com ID variando de 15,10 a 18,80. Seis genótipos foram classificados como moderadamente resistentes, incluindo o genótipo BGM 753 que é utilizado pelos agricultores do Distrito Federal devido a sua tolerância a bacteriose em condições de campo (VIEIRA *et al.*, 2007), com valores médios de ID variando de 10,20 a 12,40. Os genótipos 259/08, 497/08 e BGM 982 foram classificados como resistentes, com valores médios de ID variando de 7,80 a 9,00. Somente o genótipo BGM 434 foi classificado como altamente resistente, valor médio de ID de 4,20.

Silva *et al.*. (2008) avaliaram 14 genótipos de mandioca com coloração da polpa das raízes amarela e rosada em relação à resistência a bacteriose em condições de

campo em áreas experimentais da Embrapa Cerrados localizadas no Distrito Federal. Para o parâmetro incidência a bacteriose (IB), que foi estimado pela porcentagem de plantas com sintomas típicos da doença, os genótipos que apresentaram menores valores de IB foram a de polpa de raiz creme (BGMC 982), amarelas (BGMC 1226 e BGMC 1221) e rosadas (BGMC 1415, BGMC 1229, BGMC 1222 e BGMC 1228); diferenciando significativamente dos demais. Em relação à Severidade a Bacteriose (SB), os genótipos de mandioca de polpa de raiz amarela (BGMC 1226 e BGMC 1221), rosada (BGMC 1228 e BGMC 1222) e creme (BGMC 982) foram os que apresentaram as menores médias SB pela escala de notas de sintomas visuais de parte aérea, sendo que o genótipo BGMC 1221 foi assintomático.

Tabela 6- Classificação dos genótipos de mandioca com base no índice de doença (ID) dos sintomas individuais de mancha (MA), murcha (MU), complexo de sintomas de natureza sistêmica (CSNS) em relação ao isolado de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* UnB 1386 .

Acessos	MA	MU	CSNS	ID	Classificação
BGMC 962	5,00 b	4,80 a	4,20 a	22,10 a	S
83/08	5,00 b	5,00 a	2,40 b	18,80 b	MS
BGMC 1398	5,60 a	4,60 a	2,20 b	17,50 b	MS
26/08	5,00 b	4,20 b	2,40 b	15,10 b	MS
273/08	5,20 b	4,00 b	1,00 c	12,40 c	MR
272/08	5,00 b	4,00 b	1,00 c	12,00 c	MR
BGMC 1289	5,00 b	4,00 b	1,00 c	12,00 c	MR
BGMC 753	5,00 b	3,80 b	1,00 c	11,40 c	MR
215/08	5,00 b	3,60 b	1,00 c	10,80 c	MR
446/08	5,00 b	3,40 b	1,00 c	10,20 c	MR
497/08	5,00 b	3,00 c	1,00 c	9,00 d	R
BGMC 982	5,00 b	2,80 c	1,00 c	8,40 d	R
259/08	5,00 b	2,60 c	1,00 c	7,80 d	R
BGMC 434	5,00 b	1,40 d	1,00 c	4,20 e	AR
Média geral	5,06	3,58	1,51	12,26	-
Amplitude ¹	0,60	3,60	3,20	17,90	-
V (GL)					
QM _{Acessos} (13)	0,13626*	4,65934*	4,57582*	112,60*	-
QM _{Resíduo} (56)	0,03571	0,62857	0,64286	9,13	-
CV (%)	3,74	21,68	52,95	24,64	-

(AR) altamente resistente, (R) resistente, (MR) moderadamente resistente, (MS) moderadamente suscetível e (S) suscetível. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro pelo teste de agrupamento de médias de Scott & Knott. 1 - diferença entre a maior e a menor média. Quadrado médio (QM) seguido por (*) significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F. Quadrado médio (QM) seguido por (^{ns}) não significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Utilizando a estirpe UnB 1111, os genótipos BGMC 962 e BGMC 1398 foram classificados como suscetíveis com valores médios ID variando de 23,90 a 26,40

(Tabela 7). Os genótipos 26/08, 83/08 e BGMC 753 foram classificados como moderadamente suscetíveis, com valores médios de índice de doença variando de 15,90 a 17,40. Oito genótipos foram classificados como moderadamente resistentes, com valores médios de índice de doença variando de 10,80 a 15,00. Somente o genótipo BGMC 434 foi classificado como resistente, com valor médio de índice de doença (ID) 6,00.

Tabela 7- Classificação dos genótipos de mandioca com base no índice de doença (ID) dos sintomas individuais de mancha (MA), murcha (MU), complexo de sintomas de natureza sistêmica (CSNS) em relação ao isolado de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* UnB 1111.

Genótipos	MA	MU	CSNS	ID	Classificação
BGMC 962	5,60 a	5,40 a	4,20 a	26,40 a	S
BGMC 1398	5,40 a	5,40 a	3,40 a	23,90 a	S
26/08	5,00 b	4,80 a	2,20 b	17,40 b	MS
BGMC 753	5,00 b	5,00 a	1,40 b	16,20 b	MS
83/08	5,00 b	4,40 b	2,20 b	15,90 b	MS
215/08	5,00 b	5,00 a	1,00 b	15,00 b	MR
BGMC 982	5,00 b	4,40 b	1,20 b	13,80 b	MR
272/08	5,00 b	4,40 b	1,00 b	13,20 c	MR
446/08	5,00 b	4,20 b	1,00 b	12,60 c	MR
273/08	5,20 b	4,00 b	1,00 b	12,00 c	MR
BGMC 1289	5,00 b	4,00 b	1,00 b	12,00 c	MR
259/08	5,00 b	3,60 c	1,60 b	11,70 c	MR
497/08	5,00 b	3,60 c	1,00 b	10,80 c	MR
BGMC 434	5,00 b	2,00 d	1,00 b	6,00 d	R
Média geral	5,09	4,30	1,66	14,78	-
Amplitude	0,60	3,40	3,20	20,40	-
FV (GL)					
QM _{Acesso} (13)	0,17253*	3,9000*	5,15165*	136,33*	-
QM _{Resíduo} (56)	0,04286	0,53571	0,72857	11,86	-
CV (%)	4,08	17,02	51,51	23,30	-

(R) resistente, (MR) moderadamente resistente, (MS) moderadamente suscetível e (S) suscetível. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro pelo teste de agrupamento de médias de Scott & Knott. 1 - diferença entre a maior e a menor média. Quadrado médio (QM) seguido por (*) significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F. Quadrado médio (QM) seguido por (ns) não significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Foram classificados como suscetíveis os genótipos BGMC 962 e BGMC 1398, utilizando a estirpe UnB (1152), porém com variação de ID médio de 21,13 a 24,83 (Tabela 8). Os genótipos 26/08 e 83/08 foram classificados como moderadamente suscetíveis, com um valor médio de ID variando de 16,37 a 16,67. Os genótipos 259/08, 272/08, 273/08, 497/08 e BGMC 753 foram classificados como moderadamente resistentes, com média de ID variando de 10,80 a 12,80. Cinco genótipos foram

classificados como resistentes, incluindo o genótipo BGMC 434 que foi utilizado como padrão de resistência, com valor médio de ID variando de 5,40 a 9,60 (Tabela 8).

Tabela 8- Classificação dos genótipos de mandioca com base no índice de doença (ID) dos sintomas individuais de mancha (MA), murcha (MU), complexo de sintomas de natureza sistêmica (CSNS) em relação ao isolado de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* UnB 1152.

Acessos	MA	MU	CSNS	ID	Classificação
BGMC 962	5,40 b	5,40 a	4,20 a	26,00 a	S
BGMC 1398	5,80 a	5,00 a	3,00 b	22,00 b	S
26/08	5,00 c	4,60 b	2,40 b	16,60 c	MS
83/08	5,00 c	4,00 b	2,80 b	15,30 c	MS
259/08	5,00 c	4,00 b	1,40 c	12,80 c	MR
272/08	5,00 c	3,60 c	1,60 c	11,70 d	MR
273/08	5,20 c	3,20 c	2,00 c	11,30 d	MR
BGMC 753	5,00 c	3,60 c	1,20 c	11,30 d	MR
497/08	5,00 c	3,60 c	1,00 c	10,80 d	MR
446/08	5,00 c	3,20 c	1,00 c	9,60 d	R
BGMC 1289	5,00 c	3,20 c	1,00 c	9,60 d	R
215/08	5,00 c	3,00 c	1,00 c	9,00 d	R
BGMC 982	5,00 c	3,00 c	1,00 c	9,00 d	R
BGMC 434	5,00 c	1,80 d	1,00 c	5,40 e	R
Média geral	5,10	3,66	1,76	12,89	-
Amplitude	0,80	3,60	3,20	20,60	-
FV (GL)					
QM _{Acesso} (13)	0,26813*	4,19780*	4,99011*	151,27*	-
QM _{Resíduo} (56)	0,03571	0,41429	1,07143	8,37	-
CV (%)	3,72	17,60	58,91	22,45	-

(R) resistente, (MR) moderadamente resistente, (MS) moderadamente suscetível e (S) suscetível. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro pelo teste de agrupamento de médias de Scott & Knott. 1 - diferença entre a maior e a menor média. Quadrado médio (QM) seguido por (*) significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F. Quadrado médio (QM) seguido por (ns) não significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Nove dos quatorze acessos de mandioca de mesa avaliados tiveram diferentes classificações quanto a reação a *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, devido a variação da média do índice de doença (ID) dependendo da estirpe utilizada. O acesso BGMC 1398 foi classificado como suscetível para as estirpes UnB 1111 e UnB 1152, mas para estirpe UnB 1386 foi classificado como moderadamente suscetível. O acesso BGMC 434 foi classificado como altamente resistente para a estirpe UnB 1386, porém para as estirpes UnB 1111 e UnB 1152 foi classificado como resistente. Já o acesso BGMC 982 foi classificado como resistente para as estirpes UnB 1386 e UnB 1152, entretanto para a estirpe UnB 1111 foi classificado como moderadamente resistente.

O acesso BGM 753 foi classificado como moderadamente resistente às estirpes UnB 1386 e UnB 1152, porém para estirpe UnB 1111 foi classificado como moderadamente suscetível. Os genótipos 215/08, 446/08 e BGM 1289 foram classificados como moderadamente resistentes para as estirpes UnB 1386 e UnB 1111, mas para estirpe UnB 1152 foram classificados como resistentes. Por sua vez os clones 259/08 e 497/08 foram classificados como moderadamente resistentes às estirpes UnB 1111 e UnB 1152, mas para a estirpe UnB 1386 foram classificados como resistentes.

A existência de diferenças na classificação de acessos de mandioca, conforme a variação da estirpe de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* utilizada, em condições de casa de vegetação já havia sido relatada em mandioca (Restrebo *et al.*, 2000; Wydra *et al.*, 2004; Restrebo *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2007; Banito *et al.*, 2010). Ao avaliarem 111 genótipos de mandioca, utilizando quatro estirpes de *Xam* altamente virulenta na inoculação das folhas e das hastes Wydra *et al.* (2004) relataram que 19 genótipos mostraram diferenças na classificação quanto à variação da área da curva de progresso da doença, quanto as estirpes utilizadas. Silva *et al.* (2007) avaliaram dez cultivares de mandioca de mesa e oito clones de mandiocas bravas, utilizando duas estirpes de *Xam*, através da escala de notas de sintomas visuais e cinco variedades de mandioca de mesa demonstraram diferenças quanto à classificação de resistência e nenhuma variedade de mandioca brava apresentou variação sendo todas classificadas como resistentes a moléstia.

Banito *et al.* (2010) ao avaliarem 24 genótipos de mandioca quanto a quatro estirpes de *Xam* altamente virulentas provenientes de diferentes regiões africanas relataram que quanto a estirpe Uganda 12. 9 genótipos foram classificados como resistentes, 6 como moderadamente resistentes e 9 como suscetíveis. Para a estirpe GSPB 2507, 12 genótipos foram classificados como resistentes, 4 como moderadamente resistentes e 8 como suscetíveis. Quanto a estirpe GSPB 2511, 16 genótipos foram classificados como resistentes, 4 como moderadamente resistentes e com 8 suscetíveis. Já para a estirpe GSPB 2506, 19 genótipos foram classificados como resistentes, 4 como moderadamente resistentes e como 4 suscetíveis.

Restrebo *et al.* (2000) ao avaliarem 17 cultivares de mandioca provenientes de diferentes zonas edafoclimáticas na Colômbia, em relação à reação com 26 isolados de *Xam* inoculados nas hastes das plantas de mandioca aparentemente saudáveis, relataram que

12 cultivares apresentaram diferenças na classificação quanto a avaliação da curva de progresso da doença.

Restrebo et al.. (2004) utilizaram diferentes estirpes *Xam* e genótipos de mandioca provenientes de quatro ecozonas distintas na Colômbia, através da inoculação da haste das plantas de mandioca, visando determinar a reação dos genótipos de mandioca cultivados em cada região a diferentes estirpes de *Xam*. Para a ecozona 1, foram utilizados 6 genótipos de mandioca na reação com 13 estirpes de *Xam*, sendo que cinco desses genótipos apresentaram diferenças na classificação quanto a reação com *Xam*, devido à variação das estirpes utilizadas. Já para os provenientes da ecozona 2, os cinco genótipos de mandioca testados apresentaram diferenças de reação a 26 isolados de *Xam* testados. Três dos onze genótipos de mandioca testados quanto à reação a 25 isolados de *Xam*, originários da ecozona 5, tiveram reações diferentes com a variação do isolado utilizado. Após a utilização de oito genótipos de mandioca e seis estirpes de *Xam*, provenientes da ecozona 4-2, dois desses genótipos de mandioca apresentaram diferença na classificação devido à variação de isolados utilizados.

Após análise da relação entre os genótipos de mandioca x estirpes de *Xam*, os resultados da análise de variância revelaram a existência de diferenças significativas a 5% de probabilidade de erro, entre os genótipos de mandioca e estirpes, porém para a relação ela não foi significativa, a partir da média das notas do índice de doença considerando as três estirpes utilizadas na inoculação (Tabela 9).

Restrebo et al.. (2004) verificaram uma interação significativa com 26 isolados de *Xam* e 17 genótipos de mandioca após a inoculação das hastes das plantas medida sob a área da curva de progresso da doença. Porém, a interação isolados x genótipos de mandioca após a inoculação das folhas não foi significativa. Banito et al.. (2010) utilizaram quatro estirpes de *Xam* altamente virulentas provenientes de diferentes regiões africanas e 24 genótipos de mandioca entre variedades locais e melhoradas. Após a inoculação das hastes das plantas, verificaram que foi significativa a interação isolados x genótipos de mandioca, seis grupos de diferentes genótipos, poderiam ser úteis para identificação do patotipo.

Tabela 9- Resumo da análise de variância e valores médios de ID para reação de 14 genótipos de mandioca após a inoculação das folhas e hastes considerando as três estipes *X. axonopodispv. axonopodis* utilizadas no estudo, a partir da média dos valores do índice de doença.

Genótipos	UnB 1386	UnB 1111	UnB 1152	ID Médio	Classificação
BGMC 962	22,10 a	26,40 a	26,00 a	24,83 a	S
BGMC 1398	17,50 b	23,90 a	22,00 b	21,13 b	S
83/08	18,80 b	15,90 b	15,30 c	16,67 c	MS
26/08	15,10 b	17,40 b	16,60 c	16,37 c	MS
BGMC 753	11,40 c	16,20 b	11,30 d	12,97 d	MR
272/08	12,00 c	13,20 c	11,70 d	12,30 d	MR
273/08	12,40 c	12,00 c	11,30 d	11,90 d	MR
215/08	10,80 c	15,00 b	9,00 d	11,60 d	MR
BGMC 1289	12,00 c	12,00 c	9,60 d	11,20 d	MR
446/08	10,20 c	12,60 c	9,60 d	10,80 d	MR
259/08	7,80 d	11,70 c	12,80 c	10,77 d	MR
BGMC 982	8,40 d	13,80 b	9,00 d	10,40 d	MR
497/08	9,00 d	10,80 c	10,80 d	10,20 d	MR
BGMC 434	4,20 e	6,00 d	5,40 e	5,20 e	R
Média geral	-	-	-	13,31	-
Amplitude	-	-	-	19,63	-
V (GL)	-	-	-		-
QM _{Acessos} (13)	-	-	-	371,29*	-
QM _{Estipes} (2)	-	-	-	120,06*	-
QM _{G x E} (26)	-	-	-	14,46 ^{ns}	-
QM _{Tratamentos} (41)	-	-	-	132,75*	-
CV (%)	-	-	-	23,50	-

(R) resistente, (MR) moderadamente resistente, (MS) moderadamente suscetível e (S) suscetível. Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si, a 5% de probabilidade de erro pelo teste de agrupamento de médias de Scott & Knott. 1 - diferença entre a maior e a menor média. Quadrado médio (QM) seguido por (*) significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F. Quadrado médio (QM) seguido por (^{ns}) não significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

Considerando a média do índice de doenças em relação às três estirpes utilizadas no estudo, os genótipos BGMC 962 e BGMC 1398 foram classificados com suscetíveis. Fialho *et al.* (2002) e Vieira *et al.* (2007) realizaram experimentos de campo avaliando o desempenho de variedades de mesa em diferentes localidades do Distrito Federal, e constataram que a variedade Vassourinha (BGMC 962) é suscetível à bacteriose em condições de campo. Os genótipos 26/08 e 83/08 foram classificados como moderadamente suscetíveis quanto ao valor médio de ID considerando as três estirpes do estudo.

Os genótipos BGMC 753, 272/08, 273/08, 215/08, BGMC 1289, 446/08, 259/08, BGMC 982 e 497/08 foram classificados como moderadamente resistentes com base no valor médio de ID considerando as três estirpes do estudo. Fialho *et al.* (2002) avaliaram o desempenho de 11 variedades de mandioca de mesa em seis locais no Distrito Federal, o acesso BGMC 982 foi classificado como tolerante a *Xanthomonas axonopodis*pv. *manihoti* em condições de campo. Os acessos BGMC 982 e BGMC 753 foram classificados como moderadamente resistente a bacteriose, considerando quatro localidades distintas no Distrito Federal em condições de campo (VIEIRA *et al.*, 2007). O acesso BGMC 434 foi classificado como resistente, conforme os valores médios de ID considerando as três estirpes.

Wydra *et al.* (2004) utilizaram 111 genótipos de mandiocas melhoradas derivados do retrocruzamento de cinco indivíduos F1 foram avaliados a reação de quatro estirpes de *Xanthomonas axonopodis*pv. *manihoti* após a inoculação da haste com suspensões 10^7 UFCmL⁻¹, em condições de casa de vegetação com controle de temperatura e umidade relativa do ar. Com base nas médias das áreas abaixo das curvas de progresso da doença, considerando as quatro estirpes utilizadas no estudo, 16 genótipos mostraram reação resistente, 26 moderadamente resistentes e 69 suscetíveis.

Restrebo *et al.* (2000) utilizaram 26 isolados de *Xam* provenientes de quatro ecozonas distintas na Colômbia na inoculação de 17 genótipos de mandioca. Após a inoculação das hastes, cinco genótipos foram altamente resistentes, cinco suscetíveis, já o restante apresentaram uma vasta gama de reações. Banito *et al.* (2010) verificaram que 11 genótipos foram classificados como resistentes, quatro como moderadamente resistentes e nove como suscetíveis após a inoculação das hastes de 24 variedades de mandioca locais e melhoradas com quatro estirpes virulentas de *Xam*. O teste de

patogenicidade foi realizado utilizando 72 isolados de *Xam* em seis variedades de mandioca em casa de vegetação após a inoculação das folhas e hastes das plantas (OGUNJOBI *et al.*, 2007). A variedade 4(2)1425 foi mais resistente à reação a *Xam* em comparação as outras variedades. Já as variedades Isu e 30572 foram muito suscetíveis nos primeiros 10 dias após a inoculação. O clone 60142 apresentou baixa resistência aos isolados de *Xam* utilizados no estudo.

Ogunjobi *et al.* (2010) avaliaram 1090 acessos de mandioca compostas por variedades tradicionais e melhoradas no teste de reação de germoplasma a três estirpes de *Xam* em condições de casa de vegetação. Das 490 variedades locais utilizadas no estudo, 30,1% foram classificados altamente suscetíveis, 12,3% suscetíveis, 24,3% tolerantes e 14,3% resistentes. Dos 600 acessos de mandioca melhoradas, 4,3% foram classificados altamente suscetíveis, 36,6% tolerantes, 30,1% resistentes e 11,1% mostraram resistência muito forte. A diferença de classificação de um determinado acesso de mandioca a partir da média do índice de doença (ID), com a variação das estirpes de *Xam* utilizada na inoculação das folhas e hastes, pode ser devido à variabilidade genética entre os isolados de *Xam* provenientes de diferentes localidades.

A análise das médias do índice de doença para os três isolados de *Xam*, considerando os quatorze acessos de mandioca, permitiu estabelecer a diferença de agressividade entre as estirpes utilizadas no estudo (Tabela 10). A partir da comparação das médias do índice de doença, as estirpes UnB 1386 e UnB 1152 não diferiram entre si, possuindo agressividade semelhante. Já a estipe UnB 1111, diferiu das outras duas estirpes utilizadas no estudo, sendo mais agressiva que as demais apresentando um índice de doença médio 14,78 (Tabela 10).

Tabela 10- Agressividade das estirpes de *X. axonopodis* pv. *manihotis* utilizadas com base na média do índice de doença provocado .

Estipes	Médias
UnB 1111	14,78 a
UnB 1152	12,89 b
UnB 1386	12,26 b

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si, a 5 % de probabilidade de erro, pelo teste de Scott & Knott.

Portz *et al.* (2006) avaliaram o comportamento de 21 isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em relação à agressividade, utilizando a variedade verdinha que é altamente suscetível ao patógeno. A partir das médias dos

sintomas visuais da parte aérea, foi possível determinar que seis isolados de *Xam* fossem mais agressivos que os demais.

Silva *et al.*. (2007) avaliaram 10 cultivares de mandioca de mesa em relação à reação a *Xam* provenientes da região de Lavras e Uberlândia. A partir dos valores médios dos sintomas visuais da parte aérea, porcentagem de infecção sistêmica e porcentagem de desfolha, houve diferença de agressividade entre os isolados usados no estudo, sendo o isolado de Lavras mais agressivo que o de Uberlândia para as três características avaliadas.

Utilizando a variedade de mandioca MCol, Restrebo & Verdier (1997) realizaram testes de patogenicidade utilizando 210 estirpes de *Xam* provenientes de diferentes regiões da Colômbia. Após a inoculação das folhas, as áreas de manchas encharcadas variaram conforme os isolados utilizados durante o período de avaliação. Restrebo *et al.*. (2000) avaliaram a reação de 26 isolados de *Xam* provenientes de quatro regiões diferentes da Colômbia após a inoculação das hastes e folhas de 17 genótipos de mandioca. Não houve diferença significativa entre isolados da ecozona 2 e 5. Na ecozona 1, os isolados mostraram diferença significativa em resposta a reação de isolados de outras ecozonas. Banito *et al.*. (2010) avaliaram a agressividade de 4 isolados de *Xam* proveniente de diferentes regiões africanas após a inoculação das hastes das plantas de 24 variedades de mandiocas locais e melhoradas, que as estirpes Uganda 12 e GSPB 2507 foram mais agressivas do que as estirpes GSPB 2511 E GSPB 2506.

Ogunjobi *et al.*. (2007) avaliaram a agressividade de 72 isolados de *Xam* em seis acessos de mandioca. Do total de isolados de *Xam*, 10% não foram agressivos para variedade Isu, porém 58,5% foram altamente agressivas para mesma variedade. Os clones 30572 e 94/0430, 34% e 32,7%, dos isolados de *Xam* foram medianamente agressivos, respectivamente. Ambos os clones foram capazes de resistirem a 12,9% dos isolados testados. Somente 44,2% dos isolados de *Xam* foram altamente agressivos ao clone 4(2)1425, porém foi moderadamente resistente a 45% das estirpes de *Xam*. Os clones 96/0037 e 60142 foram capazes de resistir somente a 8,2 e 8,8%, das estirpes de *Xam*, sendo suscetível a 58,5 e 61,9% das estirpes, respectivamente.

4.0.CONCLUSÕES

- Houve diferença entre os genótipos de mandioca, após a inoculação das folhas e hastes em condições de casa de vegetação para as três estirpes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* utilizadas no estudo.
- Os genótipos BGMC 434 e BGMC 962 utilizados como padrões de resistência e suscetibilidade, respectivamente, mantiveram estes padrões após a inoculação artificial das folhas e hastes com as três estirpes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* em casa de vegetação.
- Considerando as três estirpes utilizadas no estudo, os genótipos 272/08, 273/08, 215/08, BGMC 1289, 446/08, 259/08 e 497/08 foram classificadas como moderadamente resistente a partir dos valores médios do índice de doença, podendo ser promissores para o cultivo na região do Distrito Federal, assim como os genótipos BGMC 753 e BGMC 982, que são amplamente utilizados por agricultores na região por possuírem tolerância à bacteriose.
- Houve diferença de agressividade entre isolados de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* utilizados no estudo com base no valor médio de índice de doença com os 14 genótipos de mandioca, comprovando a variabilidade genética entre isolados de regiões geográficas distintas.

5.0.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANJOS, J. R. N.; SILVA, M. S.; VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F. Principais Doenças da Mandioca no Cerrado. In: VIEIRA, E.A. & FIALHO, J. F..**Mandioca no Cerrado**. Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2011.p. 118-121.
- BANITO, A.; KPÉMOUA K. E.; WYDRA, K. Screening of Cassava Genotypes for Resistance to Bacterial Blight Using Strain x Genotype Interactions.Journal of Plant Pathology, v.92, n.1, p.181-186, 2010.
- CARVALHO, L.J.C.B.; CHEN, J.L.S.; SOUZA, C.R.B.; VIEIRA, E.A.; ANDERSON, J.V. Characterization of carotenoid-protein complexes and gene expression analysis associated with carotenoid sequestration in pigmented cassava (*Manihot esculenta* Crantz) storage root. **The Open Biochemistry Journal**, v.6, p.116-130, 2012.
- CHÁVEZ, A.L. ; SÁNCHEZ, T. ; JARAMILLO, G. ; BEDOYA, J.M. ; ECHEVERRY, J. ; BOLANÕS, E.A. ; CEBALLOS, H. ; IGLESIAS, C.A. Variation of quality traits in cassava roots evaluated in landraces and improved clones. **Euphytica**, v. 143, n. 01, p. 125-133, 2005.
- FAO. **Cassava**. Disponível em <<http://www.fao.org>> Acesso em: 27 Set. 2012.
- FIALHO, J. F.; FUKUDA, W. M. G.; PEREIRA, A. V.; JUNQUEIRA, N. T. V.; GOMES, A. C. Avaliação de Variedades de Mandioca de Mesa nas Condições de Cerrado do Distrito Federal. Boletim de Pesquisa e desenvolvimento/Embrapa Cerrados, ISSN 1676- 918X, n.73, 2002. p.20.
- FUKUDA, C.; OTSUBO, A. A. **Cultivo da Mandioca na Região Centro Sul do Brasil**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2003. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_centrosul/index.htm>. Acesso em: 20 Setembro 2013.
- HILLOCKS, R. J.; WYDRA, K. Bacterial, Fungal and Nematode disease. In: HILLOCKS, R. J.; THRESH, J. M.; BELLOTTI, A. C. (Ed.). **Cassava: Biology, Production and Utilization**. New York/USA: CAB International, 2002. p.261-280.

IGLESIAS, C.; MAYER, J.; CHÁVEZ, A. L.; CALLE, F. Genetic potencial and stability of carotene content in cassava roots. **Euphytica**, Dordrecht, v. 94, n.3, p. 367-373, 1997.

IITA.Crop Protection. In: IITA. **Cassava in Tropical Africa: Reference Manual**. Ibadan-Nigeria: Internation Institute of Tropical Agriculture, 1990. P. 69-81.

Kado,C.I.; Heskett,M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* e *Xanthomonas*. **Phytopathology**, v. 60, p.969-976, 1970 .

LÓPEZ, J. Semilla Vegetativa de Yuca. In: OSPINA, B.; CEBALLOS, H. (Ed.). **La Yuca en el Tercer Milenio: Sistemas Modernos de Producción, Processamiento, Utilização y Comercialización**. Cali: CIAT, 2002. P. 49-75.

LOZANO, J. C. Cassava Bacterial Blight: A manageable disease. **Plant disease**, Cali/Colombia, v. 70, n.12, p. 1089-1093, 1986.

MASSOLA, N. S. J. & BEDENDO, I. P. Doenças da Mandioca (*Manihot esculenta*).In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. V. 2 Doenças das plantas cultivadas. 4 ed., São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.p. 449-450.

OGUNJOBI, A. A.; FAGADE, O. E.; DIXON, A. G. O.; AMUSA, N. Pathological Variation in Cassava Bacterial Blight (CBB) Isolates in Nigeria. **World Applied Sciences Journal**, v.2, n.6, p.587-593, 2007.

OGUNJOBI, A. A.; FAGADE, O. E.; DIXON, A. G. O.; BANDYOPADHYAY, R. Assessment of large population of cassava accessions for resistant to cassava bacterial blight infection in the screen house environment. **Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development**, v.2, n.6, p.87-91, 2010.

ONYEKA, T. J.; DIXON, A. G.; BANDYOPADHY, R.; OKECHUKWU, R. U.; BAMKEFA, B. **Distribution and current status of bacterial blight and fungal diseases of cassava in Nigeria**.Ibadan/Nigeria: IITA, 2004. 41p.

PORTZ, L. R.; KUHN, O. J.; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R. Caracterização de isolados de *Xanthomonas axonopodispy*, *manihotis*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá/PR, v.28, n.3, p.413-419, 2006.

RESTREBO, S.; DUQUE, M. C.; TOHME, J.; VERDIER, V. AFLP fingerprinting: An efficient technique for detecting genetic variation of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Microbiology**, v. 145, n. 1, p. 107-114, 1999.

RESTREBO, S.; VERDIER, V. Geographical differentiation of the population of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia. **Applied and Environmental Microbiology**, American Society Microbiology, v.63, n.11, p. 4427-4434, 1997.

RESTREPO, S.; DUQUE, M. C.; VERDIER, V. Characterization of pathotypes among isolates of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia. *Plant Pathology*, n.49, p. 680-687, 2000.

RESTREPO, S.; VELEZ, C. M.; DUQUE, M. C.; VERDIER, V. Genetic Structure and Population Dynamics of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia from 1995 to 1999. *Applied and Environmental Microbiology*, v.70, n.1, p. 255-261, 2004 (a).

RESTREPO, S.; VERDIER, V. Geographical Differentiation of the Population of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia. *Applied and Environmental Microbiology*, v.63, n.11, p.4427-4434, 1997.

SILVA, F. A. N.; FERNANDES, J. J.; JULIATTI, F. C.; MELO, B. Reação de germoplasma de mandioca a *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina/PR, v. 28, n. 1, p. 3-10, 2007 a.

SILVA, M. S.; VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; DIANESE, A. C.; SANTOS, H. R.; SILVA, K. N.; SANTOS, M. F. Caracterização de Acessos de Mandiocas Coloridas e Açucaradas quanto a Resistência à Bacteriose. In: SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO, IX, 2008 b, Brasília. 6p.

SOUSA, T. C. R.; AGUIAR, J. L. P.; LÔBO, C. F. Importância da mandioca. In: FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. (Ed.). **Mandioca no Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. p. 13-23.

VERDIER, V. Bacteriosis vascular (o añublo bacteriano) de la yuca causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. In: OSPINA, B.; CEBALLOS, H. (Ed.). **La Yuca en el Tercer Milenio: Sistemas Modernos de Producción, Processamiento, Utilización y Comercialización**. Cali: CIAT, 2002. P. 148-159.

VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; SILVA, M. S. Desenvolvimento de Variedades de Mandioca de Mesa no Distrito Federal. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/Embrapa Cerrados, Brasília, n.180, 2007. 16p.

VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; SILVA, M. S. Recursos genéticos e melhoramento da mandioca. In: FIALHO, J. F.; VIEIRA, E. A. (Ed.). **Mandioca no Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. p. 25-35.

WYDRA, K.; ZINSOU, V.; JORGE, V.; VERDIER, V. Identification of Pathotypes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihoti* in Africa and Detection of Quantitative Trait Loci and Markers for Resistance to Bacterial Blight of Cassava. *Phytopathology*, v.94, n.10, p.1084-1093, 2004.

6.0. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sistema de propagação rápida é promissor para a produção de uma grande quantidade de mudas de mandioca em um curto espaço de tempo. Foi constatada que há diferenças entre as diferentes idades de estacas de duas gemas da variedade Americana para a produção de brotos herbáceos, enraizados e mudas aclimatadas. Uma adaptação do método de propagação rápida foi proposta utilizando vasos para mudas e recipientes plásticos alternativos para produção de brotos herbáceos e enraizados de mandioca.

Dentre os segmentos utilizados no estudo, o seguimento basal foi o melhor para a produção das características citadas anteriormente. Com o segmento basal, é possível obter em média 8,11 mudas por minimaniva de duas gemas. Com essa média foi possível obter 288 plantas utilizando uma planta da variedade Americana, sendo oito vezes maior que o método de propagação tradicional. O método de propagação rápida pode ser utilizado por agricultores que possuem pouca disponibilidade de manivas-sementes em suas áreas e por instituição de pesquisa para a multiplicação massiva de novos genótipos de mandioca.

Utilizando 14 genótipos de mandioca de mesa inoculados com três estirpes de *Xam* provenientes de diferentes regiões geográficas do Brasil, com a associação de sintomas individuais de parte aérea e os de natureza sistêmica, foi possível classificar esses genótipos em diferentes grupos de resistência a *Xam*. Foram atribuídas notas aos sintomas individuais de parte aérea e aos de natureza sistêmica que variaram de 1 a 6, sendo associadas gerando o índice de doença utilizado para a classificação dos genótipos de mandioca a *Xam* após a inoculação das folhas e hastes.

A nova metodologia utilizada para avaliação e classificação dos genótipos de mandioca foi satisfatória permitindo a separação de diferentes grupos de resistência a *Xam* conforme a faixas de variação do índice de doenças para cada estirpe de *Xam* e a associação dos genótipos de mandioca X estirpes de *Xam*. Foi possível determinar a diferença de agressividade entre os isolados de *Xam*, a partir dos valores médios do índice de doença considerando os 14 genótipos de mandioca utilizados no estudo, sendo o isolado UnB 1111 mais agressivo que os demais.

Os genótipos BGMC 753, BGMC 982, BGMC 1289, 272/08, 273/08, 215/08, 446/08, 259/08 e 497/08 foram classificados como moderadamente resistente

considerando as três estirpes de *Xam* utilizadas no estudo, podendo ser promissores para serem cultivados por agricultores do Distrito Federal devido serem tolerantes a bacteriose.